ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

УДК: 538.9



МАТРОБИЁН МЕХРОБ ХУРРАМЗОД

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ПОТОКОВ ТЕПЛОВЫХ НЕЙТРОНОВ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Диссертация на соискание учёной степени доктора (PhD) – доктор по специальности 6D060400-Физика

(6D060408-Физика конденсированного состояния)

Научный руководитель:

д. ф.-м. н., профессор

Махсуд Барот Исломзода

Душанбе -2026

Оглавление

Перечень сокращений, условных обозначений …….……...……...4

Введение……..5

ГЛАВА 1. Обзор литературы…….16

1.1. Ионизирующее излучение и эффект малого потока…….……16

1.2. Тепловые нейтроны и механизмы их воздействия с биологическим средами…….....25

1.3. Влияние ядерного излучения на белковые, липидные и водные структуры биожидкостей…….32

1.4. Особенности воздействия ядерного излучения на параметры крови человека……..34

Заключение к главе 1…….37

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования…..…….39

2.1. Инфракрасная спектроскопия: методика, приборы, подготовка образцов……..39

2.2. Методика измерения малых потоков тепловых нейтронов и облучения образцов……..49

2.3. Биохимический анализ сыворотки крови……...54

Заключение к главе 2…….57

ГЛАВЕ 3. Исследование влияние внешних факторов на спектральные свойства сложных биологических соединения методом ИК спектроскопии……..59

3.1. Исходные ИК-спектры крови, сыворотки крови и сыворотки куриного яйца……...…..59

3.2. Изменение частот ИК-полос поглощения сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца при хранении на воздухе…….....65

3.3. Влияние тепловых нейтронов на спектральный параметры цельной крови…….....76

3.4. Влияние тепловых нейтронов на ИК-спектры сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца……..80

Заключение к главе 3…….....90
ГЛАВА 4. Сравнительный анализ влияние внешних факторов на спектральный и биохимический параметры сложных биологических объектов…….....92
4.1. Сравнительный анализ ИК-спектров облучённой и выдержанной сыворотки крови……...92
4.2. Сравнительный анализ ИК-спектров облучённой и выдержанной на воздухе сыворотки куриного яйца……100
4.3. Сравнительный анализ спектральных изменений в сыворотке крови человека и сыворотке куриного яйца при воздействии малых потоков тепловых нейтронов…….106
4.4. Биохимический анализ воздействия тепловых нейтронов на сыворотки крови…….108
4.5. Квантово-механический расчёт действия тепловых нейтронов на спектральные параметры сыворотки крови…….....110
4.6. Механизм влияния тепловых нейтронов на спектральный параметры сыворотки крови……..114
Заключение к главе 4…….....118
Выводы……120
Рекомендации по практическому использованию результатов исследования……..122
Список литературы……..123
Публикации по теме диссертации……..136

Перечень сокращений

ИК – инфракрасный

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПВО – нарушенного полного внутреннего отражения

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

KBr – бромидом калия

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

DFT – density functional theory (теория функционала плотности)

УФ – ультрафиолетовый

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АлАТ – аланинаминотрансфераза

Введение

Актуальность темы исследования. Изучение взаимодействия различных видов излучения с веществом является одной из актуальных задач современной физики и радиобиологии. Особый интерес представляет исследование влияния ионизирующего и ядерного излучения на конденсированные среды при низких уровнях облучения, поскольку даже малые дозы и потоки способны вызывать изменения физических и химических свойств вещества.

Среди различных видов излучения особое место занимают тепловые нейтроны. Взаимодействуя с веществом преимущественно посредством реакций радиационного захвата, они могут вызывать изменения в структуре молекул и их физико-химическом окружении. В отличие от гамма и рентгеновского излучения, воздействие тепловых нейтронов не связано с интенсивной ионизацией среды, что позволяет исследовать более тонкие механизмы радиационно-индуцированных изменений.

В последние годы внимание исследователей чаще всего привлекает изучение влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на физических свойства конденсированных сред, в том числе биологические объекты. В качестве объектов исследования используются белковые системы, биологические жидкости и клеточные структуры. Полученные результаты свидетельствуют о возможности возникновения изменений на молекулярном и биохимическом уровнях даже при сравнительно низких потоках нейтронного облучения. В связи с этим исследование влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на спектральные и биохимические свойства объектов представляет как фундаментальный, так и практический интерес.

К числу перспективных биологических объектов относится биологические бактерии и сыворотки крови, являющиеся сложными многокомпонентными системами, чувствительными к внешним воздействиям. Известно, что белковые структуры в этих системах быстро реагируют на физико-химические изменения, отражая процессы, происходящие на уровне взаимодействия молекул. Изучение изменениях ИК-спектров и биохимический параметров после влияние малых

флюенсов тепловых нейтронов дает возможность подробнее понять перспективу для применение нейтронного облучения в мягкий медицинских и биофизических технологиях.

Таким образом, изучение воздействия малых флюенсов тепловых нейтронов на спектральные и биохимический параметры биологических объектов представляется собой важное направление современной физики и биофизики, объединяющий методы и подходы ядерных, химических и биологический исследования.

Степень изученности научной темы. Исследования, посвящённые воздействию нейтронного излучения на биологических объекты, проводятся на протяжении длительного времени. На начальном этапе основное внимание уделялось изучению влияния интенсивных потоков нейтронов, приводящих к существенным радиобиологическим изменениям, выключая повреждение молекул ДНК, нарушение обменных процессов и изменение структуры белковых соединений. В последние годы научный интерес всё больше направлен на изучение слабого нейтронного воздействия, при котором проявляются не деструктивыне, а тонкие модифицирующие эффекты, затрагивающие физико-химические и биологические параметры биологических систем.

Установлено, что влияние малых доз и низких потоков ионизирующего излучения может сопровождаться биохимических процессов и функционального состояния белковых систем. Отмечено, что при таких условиях наблюдается признаки повышения упорядоченности молекулярной организации, изменение активности отдельных ферментативных систем, а также преобразование спектральных характеристик биологических жидкостей.

Тем не менее, влияние малых флюенсов тепловых нейтронов на биожидкости, в частности на сыворотку крови, изучено недостаточно. Существующие исследования в основном касаются гамма- и УФ излучения, тогда как данные о влиянии нейтронов на физические и биохимические параметры этих систем практически отсутствуют.

Эта работа посвящена изучению недостаточно исследованных аспектов воздействия малых флюенсов тепловых нейтронов и продолжает цикл исследований, выполняемых на кафедре ядерной физики Таджикский национальный университет, связанных с влиянием нейтронного облучения низкой интенсивности на биологические системы.

Связь исследования с программами и научной тематикой. Тема диссертационной работы соответствует Перечени приоритетных направлений научных и научно-технических исследований в Республике Таджикистан на 2021-2025 гг. (Согласно Постановлению Правительства РТ №503 от 26.09.2020 г.) и Стратегии Республики Таджикистан в сферах науки, технологий и инноваций на период до 2030 г. (Согласно Постановлению Правительства РТ №263 от 30 июня 2021 г.). Исследование направлено на реализацию Плана мероприятий на 2020-2025 годы по реализации объявления 2020-2040 годов «Двадцатилетием изучения и развития естественных, точных и математических наук в сфере науки и образования» (Согласно Постановлению Правительство РТ №1445 от 31 января 2020 г.). Диссертационная работа выполнена в 2021-2026 гг. в соответствии с тематикой научных исследований кафедры оптики и спектроскопии Таджикского национального университета по теме «Исследование взаимного влияния многоатомных молекул методами спектроскопии и квантохимических расчетов» №01/1050-03 от 25.04.2022г., 0122TJ1427 от 29.04.2022 г..

Общая характеристика работы

Цель исследования. Целью диссертационной работы является изучение влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на спектральные и биохимические параметры сыворотки крови.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Разработка новой методики пробоподготовки и регистрации спектров обеспечивает получение высококачественных и воспроизводимых ИК-спектров биологических объектов;

2. Проведение анализа влияния времени хранения образцов на их спектральные характеристики;
3. Исследование изменений биохимических параметров (содержания белков, липидов, глюкозы и ферментов) после воздействия малых потоков нейтронов;
4. Анализ полученных ИК-спектров с использованием методов статистической и компьютерной обработки;
5. Выявление взаимосвязи между изменениями в ИК-спектрах и биохимическими свойствами сыворотки под действием тепловых нейтронов;

Объект исследования. Объектом исследования является биологическая жидкость – сыворотка крови человека.

Предмет исследования. Предметом исследования является изменение спектральных и биохимических параметры сыворотки крови при хранении, а также под воздействием малых потоков тепловых нейтронов. Особое внимание уделяется анализу изменений ИК-спектров и связных с ними структурных преобразований молекулярных компонентов исследуемой биологической системы.

Теоретические основы исследования. Теоретическая основа исследования включает положения ядерной физики, квантово-механической теории колебаний и ИК спектроскопии биологических систем. Воздействие тепловых нейтронов с биологическими средами сопровождается ядерными реакциями с участием лёгких элементов, приводящими к изменению изотопного состава вещества. Изотопные преобразования ${}^{14}_{7}N(n\gamma){}^{15}_{7}N$ вызывают увеличение приведённой массы колебательных систем и смещение полос ИК-поглощения в область меньших частот. Наиболее чувствительными к таким изменениям являются амидные полосы белков Амид $(\mathrm{I}-\mathrm{III})$, отражающие состояние пептидных связей и водородных взаимодействий. Таким образом, спектральные изменения сыворотки крови при воздействии тепловых нейтронов

обусловлены изотопными эффектами и структурной перестройкой белково-водной матрицы.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые:

1. Экспериментально исследовано влияние времени хранения на ИК-спектры биологической жидкости – сыворотки крови человека и установлены закономерности изменения спектральных характеристик в процессе выдержки.
2. Получены и проанализированы ИК-спектры указанных объектов до и после воздействия малых потоков типовых нейтронов, выявлены характерные изменения положения и интенсивности полос поглощения, обусловленные перестройкой водородных связей и модификацией структуры белково-липидной матрицы.
3. Установлено, что воздействие малых потоков тепловых нейтронов вызывает нелинейный отклик структуры отдельных составляющих биологических систем, проявляющийся в существовании диапазона флюенсов, при котором наблюдается структурно-функциональные изменения, имеющие адаптивный характер.
4. Показано, что наблюдаемые спектральные изменения согласуются с процессами радиационного захвата тепловых нейтронов лёгкими элементами (прежде своего азотом), сопровождающимся изотопными преобразованиями и приводящими к мягкой перестройке молекулярной структуры без выраженных деструктивных изменений.
5. Разработан и апробирован комплексный подход к исследованию влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на биологические жидкости с применением методов ИК-спектроскопии, биохимический анализ и квантово-механических расчётов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Экспериментально установлено, что продолжительность выдержки образцов на воздухе влияет на спектральные параметры исследованных биологических жидкостей. Проведённые экспериментальные

исследования показали, что влияние малых флюенсов тепловых нейтронов сопровождается изменением смещением отдельных полос поглощения в ИК-спектрах. Наблюдаемые изменения, связаны с перестройкой системы водородных связей, а также с изменением структуры белковых и липидных компонентов биологических объектов.

2. Эффект нейтронного гормезиса проявляется в оптимальном диапазоне потоков, при котором наблюдается улучшение биохимических показателей и упорядоченность структуры без признаков разрушения.
3. Вероятным физическим механизмом воздействия малых потоков тепловых нейтронов является радиационный захват нейтронов ядрами лёгких элементов, в частности реакция ${}^{14}_{7}N(np){}^{14}_{6}C$ сопровождающаяся локальным перераспределением энергии в молекулярной системе. Разработанная методика ИК-спектроскопического анализа биологических образцов после нейтронного обучения обеспечивает высокую воспроизводимость и достоверность результатов.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о механизмах взаимодействия тепловых нейтронов с конденсированными средами, в том числе органическими и биологическому системами. На основе анализа ИК-спектров установлено, что структурные и биохимические изменения, наблюдаемые при малых потоках нейтронов, обусловлены вероятностными ядерными реакциями радиационного захвата нейтронов ядрами (N), сопровождающимися изменением распределения энергии в молекулярных связях. Полученные результаты вносят вклад в развитие физики слабых взаимодействий биологических систем с нейтронным излучением и могут служить взаимодействий биологических систем с нейтронным излучением и могут служить основой для моделирования механизмов радиационной адаптации и нейтронного гормезиса.

Практическая значимость работы определяется возможностью применения полученных результатов в ряде прикладных направлений.

Обнаруженные спектральные и биохимические изменения под действием малых потоков тепловых нейтронов могут быть использованы в ядерной биотехнологии для мягкой модификации органических веществ и биохимических жидкостей без существенного нарушения их структуры.

1. Полученные результаты могут найти применение в области радиационной медицины исследовании потоказависимых эффектов, возникающих под действием низкоинтенсивного нейтронного облучения, а также при оценке радиочувствительности различных биологических систем.
2. Предложенные методы ИК-спектрального анализа способы обработки экспериментальных данных могут использоваться для выявления структурных изменений белков, липидов и других биомолекулярных соединений в условиях воздействия малых потоков тепловых нейтронов

Степень достоверности результатов диссертации. Степень достоверности результатов обеспечивается:

- Многократным повторением экспериментов;
- Использованием сертифицированных методик спектрального и биохимического анализа;
- Совпадением полученных зависимостей с литературными данными о слабых радиационных воздействиях;
- Статистической обработкой экспериментальных данных с вычислением доверительных интервалов;

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует направлениям паспорта специальности 6D060400 – Физика (6D060408-Физика конденсированного состояния), который утвержден Высшей аттестационной комиссией при Президенте Республики Таджикистан по следующим пунктам:

- теоретическое и экспериментальное изучение физической природы свойств металлов и их сплавов, неорганических и органических соединений, диэлектриков, в том числе светящихся веществ, как в твердом,

так и в аморфном состояниях в зависимости от химического состава, изотопа, температуры, и давление.

- разработка математических моделей и прогнозирование изменения физических свойств конденсированных сред в зависимости от влияния внешних факторов;
- разработка экспериментальных методов изучения физических свойств и изложение физических основ промышленной технологии получения веществ с определенными свойствами;
- экспериментальные и теоретические исследования свойств ядер, ядерных реакций, ядерных взаимодействий с частицами низких, средних и высоких энергий, а также определение ядерных взаимодействий в астрофизических явлениях, изучение физики космических лучей. Радиационная безопасность человека и окружающей среды.

Личный вклад соискателя учёной степени в подготовки диссертации. Автор лично участвовал в подготовке и облучении биологических образцов, регистрации нейтронного потока, проведении ИК-спектроскопических и биохимических измерений, статистической обработке экспериментальных данных и интерпретации полученных результатов. Все основные выводы и положения диссертации сформулированы лично автором.

Апробация и внедрение. Результаты диссертации докладывались и обсуждались на: Конференции профессорско-преподавательского состава, сотрудников и студентов ТНУ (Душанбе, 2020), XV международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов (Душанбе, 2020), Международные конференции на тему «Роль физики в развитии науки, образования и инноваций» (Душанбе, 2022), Современные проблемы физики и химии полимеров, материалы международной научно-практической конференции (Душанбе, 2023), Фундаментальные и прикладные проблемы современной физики, материалы международной конференции (Ташкент, 2023), Республиканской научно-практической конференции «Современные проблемы физики конденсированного состояния» (Худжанд, 2024), IX международной

научной конференции «Современные проблемы физики» (Душанбе, 2024), Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития физических наук» (Худжанд, 2025), Международной научно-практической конференции на тему «Современные проблемы физики полупроводников и диэлектриков» (Душанбе, 2025), Proceedings of International Conference «Fundamental and Applied Research in Physics» (Ташкент, 2025), Республиканской научно-теоретической конференции профессорско-преподавательского состава, соискателей и докторантов Таджикского национального университета (Душанбе, 2025), Международной научно-практической конференции на тему «Состояние и перспективы развития современной физики» (Душанбе, 2026).

Публикации по теме диссертации. Материалы диссертационной работы опубликованы в 20 научных трудах, в том числе 1 статья в издании SCOPUS, 4 статьи в рецензируемых журналах ВАК при Президенте Республики Таджикистан, 1 статья в других изданиях, а также 14 тезисов в материалах республиканских и международных конференций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка литературы и приложения. Общий объём – 139 страниц компьютерного текста, включая 40 рисунков, 14 таблиц и более 120 литературных источников.

Содержание работы

Во введение обоснована актуальность исследования влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на биожидкости, сформулированы цель и задачи диссертационной работы. Определены научная новизна и практическая значимость исследования, приведены основные положения, выносимые на защиту. Обоснована достоверность полученных результатов и указан личный вклад автора.

В первой главе представлен аналитический обзор литературы по воздействию ионизирующего и ядерного излучений с конденсированными средами, в том числе биологическими системами. Рассмотрены механизмы

воздействия тепловых нейтронов на органические и неорганические вещества и особенности их воздействия с белками, липидами и водными структурами. Проанализирован современные данные по применению ИК-спектроскопии и биохимических методов для оценки структурно и функциональных изменений в сыворотки крови. Обоснована необходимость комплексного исследования влияния малых потоков тепловых нейтронов на спектральные и биохимические параметры биологических жидкостей.

Во второй главе описаны объекты исследования – сыворотки крови человека, приведены методики их подготовки и хранения. Представлена установка для облучения тепловыми нейтронами на основе изотопного источника $Pu - Be$ приведена методика вычисления потока тепловых нейтронов и схема размещения образцов. Подробно описана методика регистрации ИК-спектров (в области $400 - 4000$ см$^{-1}$), обработка спектральных данных, а также методики проведения биохимических анализов (определение белка, липидов, ферментов и др.).

В третьей главе приведены исходные ИК-спектры цельной крови, сыворотки крови человека и модельного образца сыворотки куриного яйца. Определены характерные полосы поглощения, соответствующие основным функциональным группам биомолекул, включая амидные, липидные, карбоксилатные и фосфатные структуры. Показано, что исходные спектры исследуемых образцов отражают структурную организацию белково-липидной матрицы и систему водородных связей, формируя базовый уровень для последующего анализа изменений, вызванных выдержкой и воздействием малых потоков тепловых нейтронов.

Далее приведены результаты исследования ИК-спектров сыворотки крови человека и модельного образца сыворотки куриного яйца при различных условиях воздействия. На первом этапе выполнен сравнительный анализ спектров образцов сыворотки крови, выдержанных на воздухе в течение различного времени. Образцы сопоставлялись между собой, что позволило выявить закономерности изменения спектральных характеристик в процессе

хранения. Далее аналогичный анализ проведён для модельного образца сыворотки куриного яйца, выдержанного в тех же условиях, с сопоставлением образцов между собой и определением особенностей изменения их спектральных параметров. На следующем этапе выполнено исследование ИК-спектров сыворотки крови, подвергнутой воздействию малых потоков тепловых нейтронов, с сравнением облучённых образцов между собой при различных значениях флюенсов. Аналогичный подход применён и для модельных образцов после нейтронного облучения, где также проведено сопоставление облучённых образцов между собой.

В четвёртой главе представлен сравнительный анализ ИК-спектров сыворотки крови с сопоставлением облучённых и необлучённых образцов между собой. Аналогичный анализ проведён для модельных образцов сыворотки куриного яйца, что позволило установить особенности спектральных изменений под действием нейтронного облучения. Показано, что в областях Амид II и Amide III наблюдается сдвиг полос и изменение оптической плотности, свидетельствующие о перестройке белково-липидной структуры. Дополнительно выполнен биохимический анализ сыворотки крови, позволивший установить взаимосвязь между спектральными и биохимическими параметрами. Для интерпретации результатов проведены квантово-механический расчёты, на основе которых предложен механизм влияния тепловых нейтронов, связанный с изотопными преобразованиями и изменением параметров колебательных систем.

В завершение главы сформулированы основные выводы о характере структурно-биохимических изменений под действием малых потоков тепловых нейтронов.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Ионизирующее излучение и эффект малого потока

Ионизирующее излучение играет фундаментальную роль при изучении взаимодействия излучения с конденсированными средами, в том числе в природной и в искусственной среде и является одним из важнейших физических факторов, влияющих на живые организмы. Его биологическое воздействие зависит от типа излучения, энергии, скорости дозы и условий облучения [1-6] Понимание механизмов влияния ионизирующего излучения на живые клетки и ткани имеет большое значение для оценки радиационной безопасности, развития ядерных технологий и изучения биологических эффектов радиации [7-13].

Характер радиационных повреждений зависит как от типа излучения, так и от особенностей клеточной среды. «Излучения с высокой линейной передачей энергии, к которым относятся нейтроны и альфа-частицы, как правило, вызывают более сложные и множественные повреждения клеточных структур. В тоже время рентгеновское и гамма-излучение, характеризующиеся низкой линейной передачей энергии, чаще приводят к возникновению отдельных повреждений» [13, с. 485; 16 с. 469].

Вместе с тем клетки обладают рядом защитных механизмов, позволяющих уменьшить последствия радиационного воздействия. Отмечено, что «малые дозы ионизирующего излучения могут активировать адаптивные реакции организма, включая усиление процессов репарации ДНК, повышение активности антиоксидантной системы, удаление повреждённых клеток посредством стимуляцию иммунного ответа. Такие реакции свидетельствуют о сложном характере биологического действия малых доз излучения (менее 200 мГр) и указывают на возможное отклонение от линейной без пороговой модели, традиционно применяемой в радиационной защите» [11 с. 143].

Адаптивная защита может сохраняться от нескольких часов до недель и играет критическую физиологическую роль в противодействии как радиационно-индуцированным, так и нерадиационным повреждениям ДНК.

«При более высоких дозах (>1 Гр) эти защитные механизмы не справляются, что приводит к необратимым повреждениям, гибели клеток или мутациям. Кривые «доза-эффект» с порогом и без порога помогают различать детерминированные (с порогом) и стохастические (без порога) эффекты» [13, с. 485]. Детерминированные эффекты включают острые радиационные синдромы, такие как синдром костного мозга, желудочно-кишечный и нейроваскулярный синдромы, тогда как стохастические эффекты охватывают рак и генетические мутации, которые могут проявиться через годы после облучения [12, 15].

«Радиация может изменять генетический материал клеток, вызывая хромосомные аберрации, генетические мутации и эпигенические модификации. Среди них хромосомные транслокации рассматриваются как чувствительный индикатор предшествующей радиационной экспозиции и широко применяются в биологической дозиметрии» [14, с. 211]. Отмечаются, что «низкие дозы ионизирующего излучения приводят к небольшому, но статистически значимому увеличению частоты хромосомных транслокаций. Однако количественная оценка этих эффектов сложна из-за влияния таких факторов, как возраст, курение, генетический фон, образ жизни. Сохранение транслокаций во времени позволяет использовать их в качестве биомаркеров кумулятивной экспозиции, особенно в профессиональном и экологическом радиационном мониторинге» [4, с. 297-298].

Классическая модель линейной зависимости без порога предполагает, что любая доза ионизирующего излучения несёт пропорциональный риск вреда. Однако современные исследования показывают, что реакция биологических систем на малые флюенсов излучения может имеет более сложный характер. Отмечено, что «при дозах ниже 100 мЗв риск, рассчитанный по линейной бес пороговой модели, может быть переоценён. Ряд экспериментальных данных указывает на возможность активации защитных и восстановительных механизмов клетки при низко дозовом воздействии, что рассматривается в рамках концепции радиационного гормезиса» [15, с. 245].

«Предложена модель согласно которой зависимость доза-эффект включает несколько областей, отличающихся характером биологического ответа. Это свидительствует о нелинейном характере реакций живых систем на воздействие излучения» [21, с. 126].

«Важную роль в формировании первичного радиобиологического ответа играют не только активные формы кислорода, но и локальные изменения кислотности среды, возникающие вследствие образования ионов H_3O^+ вдоль трека заряженной частицы. Такие изменения способны влиять на биохимические процессы и активность ферментов, дополняя классическую модель радиолиза» [16, с. 469].

Экспериментальные исследования показывают, что ионизирующее излучение оказывает влияние на пролиферацию, дифференцировку и межклеточное взаимодействие. Отмечено, что «протонное излучение может изменять регуляцию клеточного цикла, процессы ангиогенеза и механизмы метастазирования, что имеет значение для развития протонной терапии и оценки влияния космической радиации» [17, с. 257].

Воздействие ионизирующего излучения проявляется не только в непосредственно облучённых клетках, не подвергавшиеся прямому влиянию радиации, способны демонстрировать биологические изменения вследствие передачи сигналов от соседних облучённых клеток. Данное явление известно как эффект «соседних клеток». Подобные процессы могут приводить к усилению тканевого ответа и участвовать в развитии долговременных последствий, в частности воспалительных и фиброзных изменений [11, с. 143; 17, с. 257].

«Ионизирующее излучение оказывает влияние на организм в целом и затрагивает различные биологические системы, выключаю кроветворную, сердечно-сосудистую и нервную системы. Экспериментальные и клинические исследования показали, что ядерное влияние сопровождается изменениями показателей крови, нарушением функций костного мозга и изменением клеточного состава кровяной системы» [18, с. 395].

Дальнейшие изучения показали, что последствия ядерного воздействия не ограничиваются только онкологическими эффектами. Было установлено , что ионизирующее излучение может способствовать развитию различных неонкологических патологий, включая нарушения сердечно-сосудистой эндокринной систем. В работе [19] на основе эпидемологисеских и молекулярно-биологических данных было показано, что облучение даже малых дозах, ранее рассматриваемых как относительно безопасные ($< 0{,}1$ Гр), способно увеличивать вероятность развития сердечно-сосудистых заболеваний и катаракты. Полученные результаты поставили под сомнение существование чётких пороговых значений для подобных эффектов.

Установлено что, «длительное влияние космического излучения оказывает заметное воздействие на клетки и ткани организма человека. Показано что, тяжёлые заряженные частицы и протоны могут вызывать повреждения ДНК и хромосом даже при относительно низких дозах облучения, характерных для длительных космических полётов. Существенную роль при этом играют процессы образования вторичных частиц, а также неравномерное распределение энергии излучения на микроуровне» [20, с. 126].

Полученные результаты указывают на необходимость дальнейшего совершенствования методов ядерного контроля и биологического мониторинга лиц, работающих в условиях повышенного ядерного фона.

Исследования в области нейробиологии показали, что протонное и тяжело-ионное излучение способно вызывать нарушения функций нервной системы даже при дозах, существенно меньших традиционно рассматриваемых пороговых значений. Согласно данным работы [22], взаимодействие протонов и тяжёлых ионов с тканями головного мозга происходить неравномерно, вследствие чего формируются локальные области с высокой плотностью передачи энергии.

В последние годы большое внимание уделяется изучению плазменных источников ионизирующего излучения и возможности их использования в биологии и медицине. Показано, что установки типа «плотнофоксированная

плазма» могут создавать рентгеновское излучение и потоки быстрых частиц способные вызывать определённые биохимические изменения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что даже кратковременное влияние подобных источников может оказывать заметное воздействие на биологические объекты, вследствие чего требуется тщательный дозиметрический контроль [23, с. 55].

Таким образом, результаты многочисленных изучений показывают, что ионизирующее излучение оказывает воздействие на биологические системы на различных уровнях организации (от молекулярных структур и клеток до тканей и организма в целом). Наблюдаемые эффекты свидетельствуют о сложном характере ядерного ответа, особенно в области малых поток. Согласно данным [15], при крайне малых потоках облучения возможна активация адаптивных и восстановительных механизмов, способных частично компенсировать возникающие ядерного повреждения.

Одной из наиболее сложных задач современной радиобиологии является исследование биологических эффектов малых и сверхмалых доз ионизирующего излучения. Установлено что, при низких дозах ядерного ответа (< 200 мГр) нередко приобретает нелинейный характер и не всегда сопровождается простым накоплением повреждений [15, 16, 24, 25]. В ряде исследований показано, что в таких условиях могут проявляется адаптационные и компенсаторные реакции клетки, связанные с усилением процессов ДНК, антиоксидантной защиты и удалением повреждённых клеток [11].

Экспериментальные данные [13, 15] также свидетельствуют о том, что воздействие малых доз влияние малых флюенсов излучения способно активировать внутриклеточные сигнальные механизмы, участвующие в регуляции метабиолческих и защитных процессов. В результате усиливается устойчивость клеток к оксилитеьному стрессу и повышается структурная стабильность биомолекулярных комплексов. Подобные адаптивные эффекты выявлены как в клеточных культурах, так и в организмах более высокого уровня организации, где умеренные дозы излучения вызывают компенсаторные

физиологические отклики и стимулируют восстановление повреждённых тканей. Совокупность экспериментальных данных послужила основой для развития концепции радиационной гормезиса, согласно которой низкоинтенсивное радиационное воздействие может оказывать регулирующее и стимулирующее влияние на биологические системы, способствуя сохранению их функциональной активности и гомеостатистического равновесия, а не вызывать исключительно деструктивные последствия.

Сложность радиационно-индуцированных реакций значительно возрастает вследствие межклеточных сигнальных феноменов, таких как «эффект свидетеля», при котором необлучённые клетки проявляют стрессовые ответы, инициированные сигналами от соседних облучённых клеток [14, 26].

«С экологической и биосферной точки зрения в научной литературе предложена концептуальная модель, описывающая закономерности реакций живых систем различных уровней организации (от отдельных организмов до популяций и экосистем) на длительное воздействие ионизирующего излучения» [21, с. 181]. Согласно этой модели, биологический отклик имеет зональный характер: от области биологической неопределённости, где уровень излучения ниже естественного фона, через зоны физиологического благо получения и маскирования, в пределах которых наблюдаемые биохимические и цитогенические эффекты компенсируются естественной вариабельностью, до зон, характеризующихся развитием выраженного экологическую ущерба при увеличении дозовой нагрузки. Подобный подход подчёркивает адаптационные возможности живых систем в условиях естественного радиационного воздействия и указывает на то, что в ходе эволюции сформировались устойчивые механизмы поддержания функционального равновесия при хроническом низкоуровневом облучении.

Отмечено, что «вся жизнь на Земле адаптировалась к среде, где существует небольшой, постоянный радиационный фон, взаимодействующий с клетками. В отличие от оценки явно вредных последствий высоких доз радиации, понимание воздействия этой низкой постоянной радиации на живые системы невероятно

сложно. Для выяснения того что является ли фоновое излучение важным фактором в эволюции, проведя идентичные эволюционные эксперименты с $Escherichia\ coil$ в Клермон-Ферранской лаборатории физики элементарных частиц и в Моданской подземной лаборатории. Несмотря на 7,3-кратную разницу в скорости взаимодействия радиационного фона с клетками в двух средах, существенной разницы в конкурентоспособности клеточных популяций, выращенных в каждом месте обнаружено не было. Используя моделирование, было показано, что скорость взаимодействия ионизирующего излучения с клетками в сто раз ниже, чем скорость мутаций $Escherichia\ coil$ в наших экспериментальных условиях, что подтверждает утверждание о том, что естественное излучение не оказывает сильного эволюционного влияния. Для дальнейшего подтверждения этого вывода было разработано механическое моделирование повреждения ДНК в рамках проекта $Geant4 - DNA$. Используя это приложения, было предложено модель генома $Escherichia\ coil$, показав, что при электроном облучении с энергией > 10 кэВ выход двуцепочечным разрывов можно с достаточной точностью оценить в диапазоне от 0,006 до 0,010 DSB $\text{Гр}^{-1}\text{Мбп}^{-1}$, в зависимости от моделирования захвата радикалов. Это согласуется с экспериментальными данными, ещё раз подчеркивая незначительную роль естественного ионизирующего излучения как причины мутаций» [27, с. 5].

Изучение воздействия неионизирующего электромагнитного излучения позволяет расширить представления о возможных биологических эффектах. В научных исследованиях отмечается, что «ионизирующего излучение способно вызывать ионизацию атомов и нарушение химических связей, тогда как действие неионизирующего излучения в основном связано с тепловыми и электрофизическим изменений перестройкой биологических тканях. Несмотря на то, что неионизирующее излучение не инициирует прямое разрушение молекулярных структур, его воздействие может проявляться через тепловые или функционально-физиологические механизмы регуляции клеточных процессов. Отдельные исследования, посвящённые сравнительному анализу

диагностических методов, основанных на применении ионизирующих и неионизирующих излучений [29], показали, что исследование первых сопровождается незначительным, но измеримым радиационным риском, тогда как методы, основанные на действии магнитных и акустический полей (МРТ, ультразвуковая диагностика), при соблюдении регламентированных параметров считаются безопасными. Сопоставление этих данных подчёркивает необходимость системного подхода к изучению биологических откликов на весь спектр электромагнитных воздействий – от высокоэнергетических ионизирующих до низкоэнергетических неионизирующих излучений.

«Современные радиобиологические исследования обобщают накопленные за последние десятилетия экспериментальные и теоретические данные, формируя механизмах защиты живых систем. Ионизирующее излучение рассматривается не только как деструктивный фактор, вызывающий повреждения биомолекул, но и как регуляторный элемент, способный модифицировать метаболические пути, изменять конформационное состояние белков и активировать сложные системы репарации ДНК. Показано, что адъективное понимание биологических последствий радиационного воздействия невозможно без интеграции физико-энергетических процессов депонирования энергии с молекулярно-биологическими механизмами клеточной адаптации. Такой междисциплинарный подход формирует концептуальную основу современной физики конденсированного состояния (радиационной биологии, объединяя принципы радиофизики, биохимии и системного анализа живых системах)» [30, с. 24].

В совокупности современные исследования свидетельствуют о высокой вариабельности биологических эффектов ионизирующего излучения, зависящей от дозы, мощности дозы, качества излучения, а также уровня биологической организации. При низкоинтенсивных воздействиях преобладают адаптивные и герметические реакции, направленные на поддержание функционального гомеостаза. В диапазоне средних доз наблюдается сочетание стимулирующих и частично повреждающих эффектов, тогда как при высоких дозах доминируют

деструктивные, детерминированные последствия, приводящие к структурным и функциональным нарушениям клеточных систем. Таким образом, живые организмы демонстрируют континуум радиационных откликов, отражающих их врождённую способность воспринимать, перераспределять и компенсировать энергетические возмущения внешней среды. Осознание закономерностей этого континуума имеет принципиальное значение для совершенствования нормативных подходов к радиационной безопасности, оптимизации медицинских и биотехнологических технологий, а также для интерпретации специфических эффектов низкоинтенсивного воздействия ядерного излучения на конденсированные среди, в том числе сложные биологические среды, включая сыворотку крови и белок куриного яйца , что составляет экспериментальную основу настоящей роботы.

«Исследовано взаимодействие живой материи различного уровня организации, включая прокариотические и эукариотические организмы, с потоком тепловых нейтронов. При прохождении термализованных нейтронов от источника $Pu - Be$ через плоский слой суспензии $Escherichia\,coil$ был исследован феномен виртуальной нейтронной ловушки. Кроме того, изучалось изменение метаболических характеристик цист $Artemia\,salina$ до и после воздействия исскуственного потока тепловых нейтронов. Полученные результаты показали, что облучение может по разному влиять на содержание отдельных химических элементов в живых и мёртвых цистах. В частности, после воздействия нейтронного потока содержание Mn в живых образцах $Artemia\,salina$ увеличилось более чем в десять раз, тогда как концентрация As уменьшилась примерно в два раза. При этом для таких элементов, как Al, Cr, Ni, Cu, Cd и Pb, существенных изменений выявлено не было. Состав микроэлементов в цистах оценивали методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией и коррекцией фона Зеемана» [31, с. 2175].

1.2. Тепловые нейтроны и механизмы их взаимодействия с биологическими средами

Исследования взаимодействия низкоинтенсивных потоков тепловых нейтронов с различными типами конденсированных сред (от наноструктур и полупроводников до микроорганизмов, биологических мембран и сложных биологических растворов) в последние десятилетия приобрели выраженную междисциплинарную направленность. Это связано прежде всего с тем, что тепловые нейтроны способны взаимодействовать с веществом и изменять его свойства на различных уровнях, начиная от молекулярных изменений и заканчивая изменениями структуры и состояния материала в целом. В биологических системах результат такого воздействия зависит от условий облучения и особенностей самого объекта. В одних случаях наблюдаются радиационные повреждения, тогда как при определённых дозах и потоках могут проявляется и стимулирующие эффекты, которые связывают с явлениям радиационного гормезиса.

«В 1932 г. Дж. Чедвик открыл нейтрон с использованием источника полония и бериллиевой мишени. Для биологических материалов, богатых водородом, важным свойством нейтронов является различная чувствительность к водороду и его изотопу дейтерию. В отличие от рентгеновского рассеяния, нейтронное рассеяние обусловлено ядерными силами. При резонансном рассеянии когерентная длина нейтронного рассеяния может значительно изменяться по величине и фазе, что обеспечивает чувствительность к лёгким и тяжёлым атомам, а в некоторых случаях и к их изотопам. Эти особенности используются при исследовании биомембран различными методами нейтронного рассеяния» [32-34]. Исследована зависимость относительной биологической эффективности нейтронов от энергии и характеристик нейтронного поля. Показано, что «максимальная относительной биологической эффективности нейтронов наблюдается при энергии около 1 МэВ. Для её оценки использованы модели на основе расчётов $Phits$ и $Partrac$, учитывающие перенос нейтронов и повреждение ДНК. Полученные результаты качественно

согласуются с действующими коэффициентами радиационной защиты» [36, с. 34033].

Фоновый флюенсов тепловых нейтронов постоянно присутствует в окружающей среде (начиная от верхних слоёв почвы и заканчивая биосферой). Его образование связано с действием космического излучения, а также с распадом природных радиоактивных нуклидов, в том числе радона и его дочерних продуктов [38]. За счёт сравнительно большой длины свободного пробега тепловые нейтроны способны распространяться на значительные расстояния в атмосфере, почве и водной среде. Поэтому они являются одной из составляющих естественного ядерного фона, оказывающего воздействие на биосистемы.

За последние годы нейтронные методы изучения нашли широкое применение в экологии, биотехнологии, аграрной биологии и исследованиях растений. Благодаря высокой чувствительности нейтронов к лёгким элементам и отдельным изотопам эти методы используются при изучении структуры и свойств биологических мембран, белков, ферментов и нуклеиновых кислот, а также процессов переноса воды и минеральных веществ в растительных тканях [37, 40]. Большой интерес представляют методы малоуглового рассеяния нейтронов и нейтронной томографии которые позволяют исследовать биологические системы непосредственно в процессе их функционирования без существенного нарушения естественных условий.

Одним из важных направлений современных исследований является изучение влияния малых потоков тепловых нейтронов на свойства конденсированных сред. Показано, что слабое нейтронное облучение может ускорять обменные процессы и повышать устойчивость организмов к внешнем воздействиям [31, 36]. Предполагается, что такие эффекты связаны не только с ионизацией, но и с ядерными реакциями типа (γ, n), происходящими на атомах, входящих в состав биомолекулы.

«Приводится экспериментальные данные по проблеме взаимодействия тепловых нейтронов малого потока с различными средами. Показано, что

несмотря на малых потоках тепловых нейтронов и трудности регистрации изменений свойств сред при данном взаимодействие можно наблюдать эффект гормезиса. Основным условием в данном случае является правильный выбор объекта исследования. На примере анализа экспериментальных результатов влияния тепловых нейтронов на свойства полупроводниковых материалов, полимеров, семян растений и азотосодержащих бактерий наблюдается эффект «малых доз». В отличие от действий других видов ядерного излучения связанной с ионизацией атомов среды, при нейтронном облучении эффект гормезиса связана с ядерными реакциями радиационного захвата тепловых нейтронов ядрами атома этих сред» [42, с. 106]. Исследователи отмечают, что «похожие стимулирующие эффекты были обнаружены и у цист $Artemis\ salina$. После нейтронного воздействия наблюдалось изменение содержания некоторых микроэлементов: концентрация марганца увеличивалась, а содержание мышьяка уменьшалось» [31, с. 1]. Полученные результаты указывают на возможные биохимические изменения, происходящие под действием нейтронов на молекулярном уровне.

«Значительный интерес вызывает взаимодействие нейтронов с наночастицами и наноструктурированными материалами. Исследования показывают, что при взаимодействии ультрахолодных нейтронов с наночастицами могут происходить изменения их структуры и свойствв» [35, с. 400-408].

«Изучены изменения порогового тока инжекционных квантоворазмерных $InGaAs/AlGaAs$-гетеролазеров, излучающих вблизи длины волны $\lambda = 0{,}7$ мкм, при облучении тепловыми нейтронами. Обнаружено уменьшения порогового тока накачки при малых дозах (10^7 нейтрон/см^2), а также увеличение этого тока и деградация структуры при дозе более $6 \cdot 10^7$нейтр./см^2. Выявлено, что основной причиной роста порогового тока при больших дозах облучения является ядерные реакции типа ${}^{115}_{49}In(n,\gamma){}^{116}_{49}In$ и β-распад изотопа ${}^{116}_{49}In$ в результат которого появляются атомы ${}^{116}_{50}Sn$» [43, с. 216; 46, с. 660].

«Изучено влияние малого потока тепловых нейтронов на скорость роста бактерий $Rhizobium\ phaseoli\ IS\ TAAS - 80TJ$, предназначенных для производства микроудобрений. Обнаружено явление гормезиса времени прорастания бактерий при их облучении малыми потоками тепловых нейтронов. Наилучший результат получен при потоке нейтронов в $5{,}4 \cdot 10^6$ нейтрон/см^2, при котором время прорастения бактерий сокращается в 5-6 раз» [48, с. 723] (рисунок 1.1).

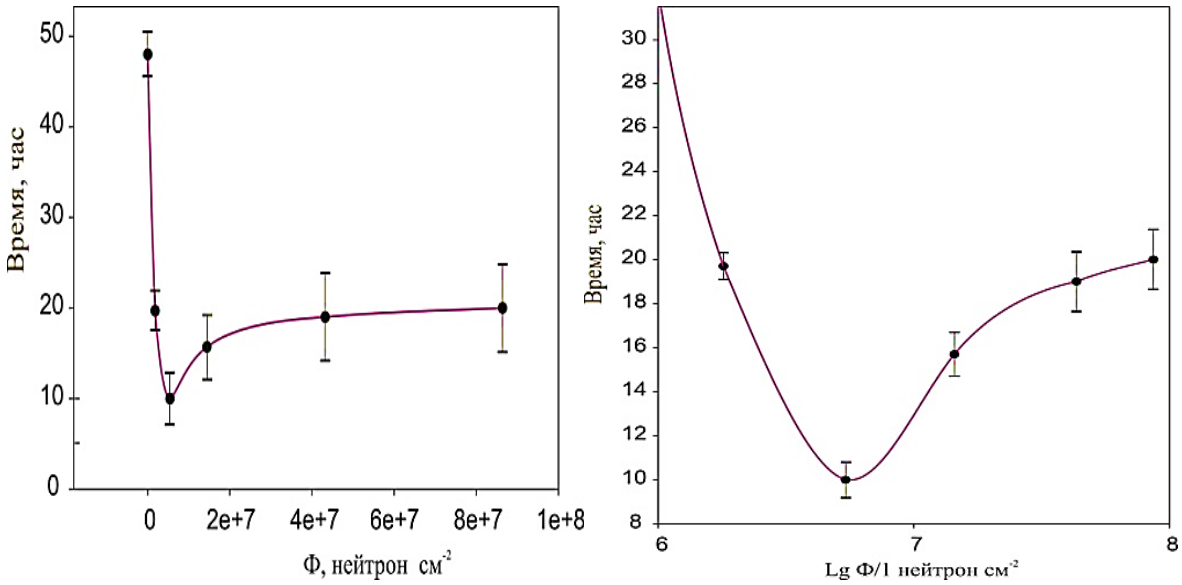

Рисунок 1.1. – Изменение скорости роста бактерий при различнчх флюенсов нейтронного облучения [48]

Физический основой выявленных биологических эффектов считается радиационный захват тепловых нейтронов ядрами лёгких элементов, главным образом азота, сопровождающийся протеканием реакций следующего типа:

$$^{14}_{7}N(n,\gamma)^{15}_{7}N \quad \text{и} \quad ^{14}_{7}N(n,\gamma)^{15}_{7}N \qquad (1.1)$$

Эти процессы могут происходить к изменениям на микроуровне элементного состава и энергетического состояния клеточных структур, что в свою очередь, способно приводить к перестройке метаболических процессов и изменению активности ферментных систем.

В качестве косвенного подтверждения возможного ядерного механизма воздействия был проведён модельный эксперимент с использованием гуминовой кислоты. После его нейтронного облучения отмечалось ускорение прорастания семян арахиса (рисунок 1.2).

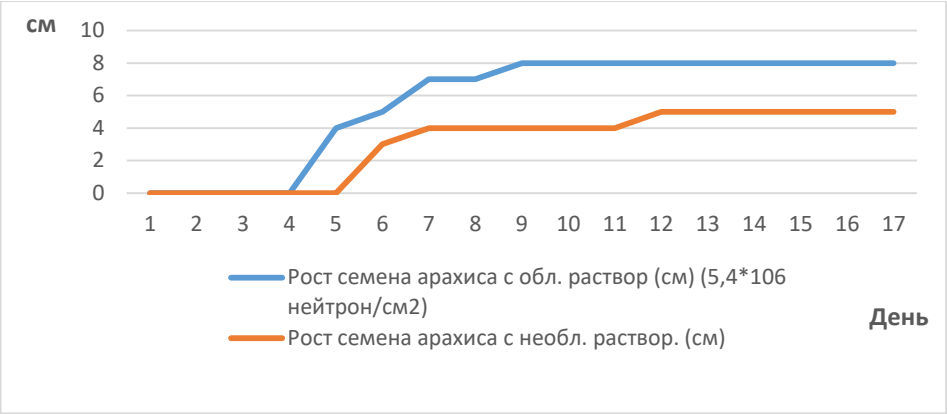

Рисунок 1.2. – Воздействие нейтронного облучения гуминовой кислоты на прорастение семян арахиса

«Результаты ИК-спектроскопических исследований, показывают, что после влияния нейтронов в бактериях наблюдается структурные изменения, регистрируемые в инфракрасном диапазоне. Наиболее чувствительной оказалась полоса поглощения около $1384\ см^{-1}$, соответствующая деформационным колебаниям группы $-CH_3$. Изменение её оптический плотности имеет выраженный максимум при определённом потоке нейтронов, что соответствует наибольшей биологической активности исследуемых культур. На основании сравнительного анализа ИК-спектров на рисунках 1.3. и 1.4 можно утверждать, что оптическая плотность полосы при $1384\ см^{-1}$ для обоих видов бактерий увеличивается при определённых потоках тепловых нейтронов. Эта оптическая плотность данной полосы для обоих бактерий увеличивается, и далее эта зависимость после прохождения через максимум снова начинает снижаться» [48, с. 723].

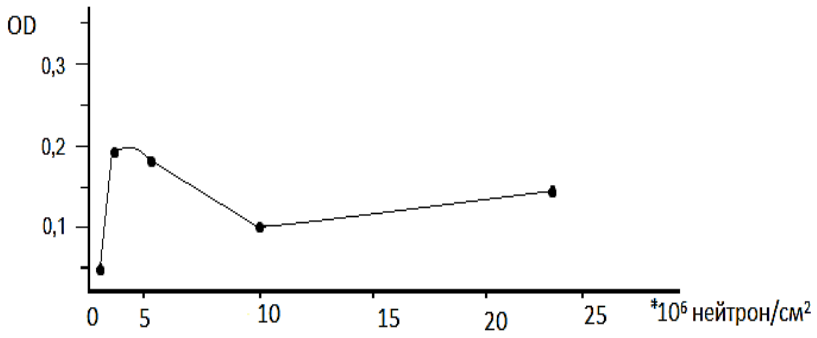

Рисунок 1.3. – Зависимость оптической плотности полосы поглощения $1384\ см^{-1}$ в ИК-спектра *Rhizobium phaseoli IS TAAS − 80TJ* от величины флюенса тепловых нейтронов

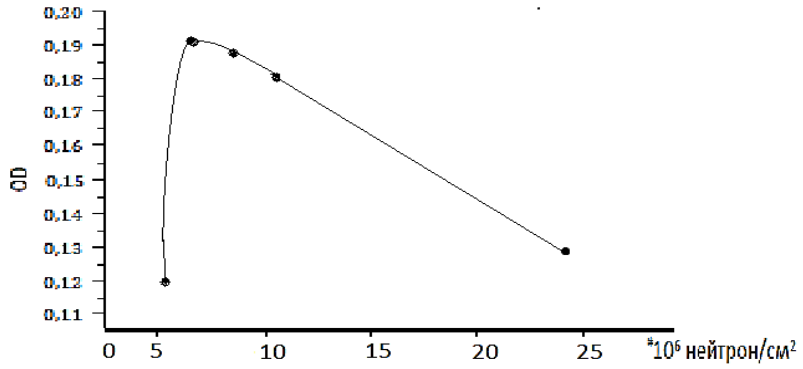

Рисунок 1.4. – Зависимость оптической плотности полосы поглощения 1384 $см^{-1}$ в ИК-спектра *Bacillus megaterium var. phosphaticum* от величины флюенса тепловых нейтронов

«Рассеяние нейтронов может быть использовано для получения информации о структуре и динамике биологических систем в различных пространственных и временных масштабах» [40, с. 1129].

Современные экспериментальные и теоретические исследования привели к формированию более согласованных представлений о гидратационных числах ионов Li^+, Na^+ и K^+. Результаты методов $ab\ initio$ показыают, что в физиологических условиях все три иона преимущественно координируются четырьмя молеулами воды. Дополнительные слабо связанные молекулы воды, выявленные для ионов Na^+ и K^+, могут объяснять экспериментально наблюдаемые гидратационные числа, равные 5 и 6 соответственно [41, с. 192].

В естественных условиях биологические объекты обладают динамически организованной водной оболочкой. Тепловые нейтроны нарушают или перестраивают её структуру благодаря высокой чувствительности к водороду, что приводит к изменению времени релаксации водных кластеров; водных дипольных моментов; изменению транспорта ионов и протонов; перестройке pH-микросреды; активации или ингибированию белков.

Таким образом, ключевым механизмом взаимодействия нейтронов с конденсированными средами, в том числе биосистемами является не разрушение, а структурная и функциональная перенастройка биомолекул.

«Согласно результатам квантово-механических расчётов нейтронное воздействие приводит к локальной перестройке электронных состояний атомов

в материале» [14, с. 21]. Аналогичные процессы происходят и в биомолекулы: меняется распределение электронной плотности вокруг атомов углерода, азота, кислорода и серы; возможны перестройки σ- и π-связей; изменяются энергетические уровни в аминокислотах; появляется возможность формирования новых водородных связей; изменяются плазмоенные характеристики больших молекулярных комплексов. Поскольку все эти процессы происходят на фемто- и пикосекундных временах, биомолекулы реагируют быстро и многовариантно – что и объясняет наблюдаемый многообразный характер эффектов «малых потоков» (рисунок 1.5).

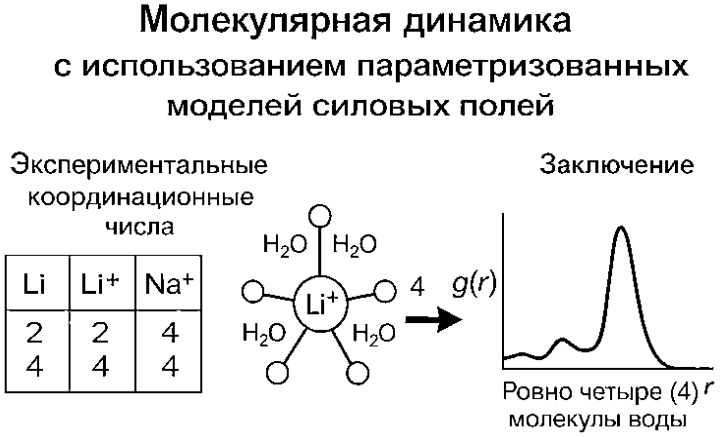

Рисунок 1.5. – Эволюция понимания чисел гидратация ионов щелочных металлов в водном растворе: ранней экспериментали̇ной неопределенности до консенсуса, полученного на основе моделирования *ab initio* ($DFT/AIMD$)

В совокупности, данные по воздействию малых тепловых нейтронов с конденсированными средами, типа биологических и неорганических систем позволяют выделить универсальные механизмы: ядерные реакции (главным образом радиационный захват и испускание γ-квантов); радиолиз воды и изменение структуры гидратационных оболочек; перестройка локальных электронных состояний омов; модификация химических связей в биополимерах; активация или ингибирование биохимических каскадов; нелинейность отклика и эффект нейтронного гормезиса; изменение свойств материалов, моделирующих биологические процессы ($CdTe, InGaAs, ZnCdTe$); различие эффектов в зависимости от структуры среды и исходного состояния объекта; эти комплексные процессы формируют уникальную область – нейтронную физику

малых потоков, которая стремительно развивается и открывает новые перспективы для изучения конденсированных сред, в том числе биологических и медицинских систем.

1.3. Влияние ядерного излучения на белковые, липидные и водные структуры биожидкостей

Изучение влияния ядерного излучения на свойства конденсированных сред на примере биологических сред имеет фундаментальное значение для понимания механизмов радиационных повреждений на молекулярном уровне. Биожидкости такие как сыворотка крови, плазма, внеклеточная жидкость или содержимое яичного белка – представляют сложные коллоидные системы, включающие белки, липиды, углеводы и различные фракции воды. В этих средах под воздействием нейтронного и фотонного излучения возникают целый комплекс структурных изменений, которые проявляются как на уровне макромолекул так и на уровне организации водных кластеров. В данном разделе систематизируются современные данные, полученные методами липидомики, спектроскопии и молекулярной биофизики и формируется целостное представление о механизмах радиационного воздействия на белковые, липидные и водные структуры биожидкостей.

«Белки являются одной из основных мишеней ионизирующего и особенно нейтронного излучения. Повреждение белков развивается преимущественно за счёт радиолиза воды: образующиеся гидроксильные и водородные радикалы немедленно вступают в реакции с боковыми цепями аминокислот, вызывая их окисление, фрагментацию и нарушение пространственной структуры. Наибольшей чувствительностью отличаются метионин, цистеин, тирозин и триптофан, участвующие в формировании стабильных гидрофобных кластеров и дисульфидных мостиков» [49, с. 1111].

«Несмотря на глобальное воздействие ионизирующего излучения, молекулярные механизмы, лежащие в основе повреждения тканей, показывают, что многие биомолекулы подвергаются хемо селективной модификации под действием ионизирующего излучения» [50, с. 260].

«По данным ИК-спектроскопии, наблюдаемые изменения сопровождаются снижением интенсивности полосы Амид I ($1650\ см^{-1}$), смещением полосы Амид II ($1540\ см^{-1}$), а также появлением полос в области $1740 - 1780\ см^{-1}$, которые связаны с кислородсодержащими функциональными группами. Полученные результаты позволяют предложить, что под воздействием происходят изменения в структуре белков, затрагивающие их пространственную организацию. Подобные эффекты ранее были обнаружены и в более сложных биополимерных системах, в том числе в мембранных белках. Как отмечается в литературе, важную роль играет гидратационная оболочка белков, поскольку даже незначительные изменения структуры связанной воды могут отражаться на их физических и оптических свойствах» [48, с. 723]. Кроме того, согласно данным ряда исследований, воздействие излучения может сопровождаться изменениями липидного состава биологических жидкостей [53-55].

Изменения липидных структур отражаются и в ИК-спектрах: наблюдается уменьшение интенсивности полос CH_2/CH_3 в области 2850-2950 $см^{-1}$, ослабление карбоксильной полосы $C = O$ около 1735 $см^{-1}$ и появление полос, связанных с окисленными формами липидов в области 1780-1790 $см^{-1}$. Подобные спектральные изменения особенно важны при изучении биологических жидкостей, содержащих липопротеиновые комплексы, включая сыворотку крови и желток куриного яйца (рисунок 1.6).

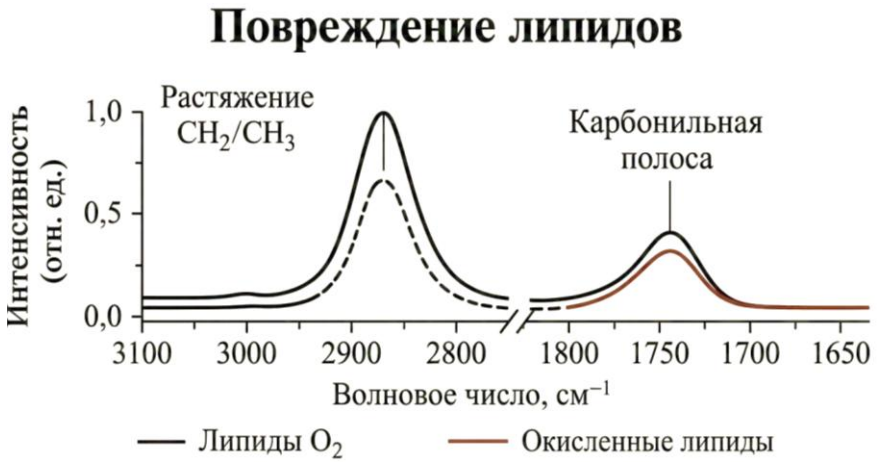

Рисунок 1.6. – Изменения ИК-спектров липидных компонентов биологических жидкостей после радиационного воздействия

«Поскольку биологические жидкости в значительной степени состоят из воды, именно вода рассматривается как одна из основных мишеней радиационного воздействия. Радиолиз воды сопровождаются образованием активных радикалов и других реакционноспособных продуктов, запускающих вторичные химические процессы» [52, с. 843].

В биологических системах вода присутствует в свободном и связанном состояниях, включая гидратационные оболочки белков и липидов. Под действием излучения могут происходить изменения системы водородных связей, перераспределение между свободной и связанной водой, а также изменение структуры водных кластеров. Эти процессы отражаются в ИК-спектрах в виде уширения полос $O-H$ колебаний в области 3100-3600 $см^{-1}$ и смещение полос, связанных структурированной водой.

«Медицинская визуализация является специализированной областью медицинской физики, радиологии, медицинской информатики и биомедицинской инженерии, включающей принципы получения, реконструкции и анализа изображений, а также их применение в диагностике и лечении» [59, с. 621].

1.4. Особенности воздействия ядерного излучения на параметры крови человека

Исследование крови является одним из важнейших диагностических методов. Кроветворные органы чрезвычайно чувствительны к различным физиологическим и особенно патологическим воздействием на организме, поэтому картина крови является тонким отражением этих воздействий.

«Цельная кровь, представляющая собой смесь клеток, коллоидов и кристаллоидов, может быть разделена на различные компоненты: концентрат эритроцитарной массы, концентрат тромбоцитов, свежезамороженную плазму и криопреципитат. Каждый компонент крови используются для разных показаний: разделение компонентов позволило максимально эффективно использовать одну единицу цельной крови. Для достижения терапевтической эффективности различные компоненты требуют разных условий хранения и температурных

режимов. В настоящее время широко используется различное оборудование для поддержание подходящих условий окружающей среды во время хранения и транспортировки» [60, с. 529].

Ядерное излучение, включая гамма-кванты, рентгеновское излучение, быстрые и тепловые нейтроны нарушает это равновесие, изменяя биофизические и биохимические свойства компонентов крови на всех уровнях их структурной организации. В отличие от тканей, радиационные повреждения часто носят локальный характер, кровь реагирует системно, отражая как прямые повреждения биомолекул, так и косвенные изменения, обусловленные радиолизом воды и нарушением межмолекулярных взаимодействий [61-63].

«Кровь выполняет широкий спектр жизненно важных функций, включаz транспорт газов, питательных веществ, гормонов, электролитов, участие в иммунном ответе, поддержание кислотно-щелочного равновесия, обеспечение терморегуляции и регуляции водно-солевого. Эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и белки плазмы являются критически важными элементами, и нарушение их структуры под влиянием радиации приводит к комплексным физиологическим и молекулярным последствиям. В связи с этим изучение ядерно-индуцированных изменений крови является ключевым элементом радиобиологии и трансфузионный медицины» [61, с. 140].

Ионизирующее и особенно нейтронное излучение инициирует два основных класса повреждений:

1) Прямые повреждения биомолекул. Они вызываются непосредственным взаимодействием квантов или частиц с молекулами:

- Разрывы ковалентных связей;
- Повреждения ДНК (одиночные и двойные разрывы);
- Модификация аминокислотных остатков;
- Радиационная денатурация белков;
- Деградация липидных мембран;
- Изменение заряда и конформации белков;
- Нарушение пространственной структуры;

2) Косвенные повреждения через радиолиз воды. Особое значение данные процессы имеют для плазмы крови, основную часть которой составляет вода. Под воздействием излучения происходит радиолиз воды с образованием активных радикалов, способных инициировать последующие окислительные реакции. В результате могут наблюдаться процессы перекидного окисления липидов, окислительная модификация белков и перестройке гидратации макромолекул. В результате могут наблюдаться процессы перекидного окисления липидов, окислительная модификация белков и перестройки гидратации макромолекул.

Плазма крови содержит большое количество белков, включая альбумины, глобулины, иммуноглобулины, ферменты и липопротеины. Влияние радиации может сопровождаться изменением их пространственной структуры, нарушением пептидных связей и образованием окисленных функциональных групп.

Плазма крови содержит большое количество белков, включая альбумины, глобулины, иммуноглобулины, ферменты и липопротеины. Влияние радиации может сопровождаться изменением их пространственной структуры, нарушением пептидных связей и образованием окисленных функциональных групп.

ИК-Фурье спектроскопия позволяет регистрировать подобные изменения по уменьшению интенсивности полосы Амид I (1650 $см^{-1}$), Амид II (1540 $см^{-1}$), а также изменению полос в области 945-1280 $см^{-1}$, связанных с фосфатными группами. Отмечаются, что при воздействии фотонного излучения изменяется структура гемоглобина, что приводит к искажению NH- CH- полос.

Иммунные белки. «Исследование показало, что «даже низкие дозы быстрых нейтронов (10 мГр) вызывают снижение интенсивности амидных полос, уменьшение содержания триптофана, изменения вторичной структуры, и слабые повреждения ДНК» [63, с. 419].

Лимфоциты (наиболее радиочувствительные клетки). Классическое исследования [62] установило: при 5000 рад лимфоциты сохраняют лишь 1,5 %

включения H^3-тимидина, при 7500 рад – синтез ДНК полностью прекращается, и при 5000 рад подавляется пролиферация, но другие клетки сохраняют функциональность. Именно лимфоциты – мишень, ответственная за развитие реакции «трансплантат против хозяина», поэтому их инактивации является ключевая цель процедур облучения крови [68–72].

Нейтрофилы и моноциты. Реакция вызывает в том числе нарушение хемотаксиса, снижение способности к фагоцитозу, снижение образования супероксидного аниона и изменение ядерной морфологии и хроматиновой структуры [64].

Тромбоциты. Тромбоциты демонстрируют более высокую устойчивость, однако при дозах около 5000 рад, уменьшается выход тромбоцитов при центрифугировании, возможны нарушения агрегации и мембраны частично теряют целостность [62].

Эритроциты. Эритроциты не содержат ядра, поэтому не страдают от радиационных повреждений ДНК. Однако они крайне чувствительны к пероксидному окислению мембран, нарушению липидного слоя и гемолизу. «Исследования показали, что повышение калия в плазме после облучения, рост уровня гемолиза при хранении, увеличение вязкости крови, увеличение объёма эритроцитов и ускоренное старение клеток. Эти изменения особенно выражены при γ-облучении и в условиях комбинированного радиационного воздействия» [78, с. 137].

«Известно, что реологические свойства крови определяются её вязкостью, деформируемостью эритроцитов и степенью их агрегации. Показано, что воздействие ионизирующего излучения может сопровождаться изменением вязкости крови, объёма эритроцитов, содержания гемоглобина и величины гематокрита, что может приводить к нарушением микроциркуляции» [79, с. 1-2].

Заключение к главе 1

Проведённый обзор литературы данных показывает, что влияние ионизирующего и нейтронного воздействия на конденсированные среды сопровождается рядом физических и биологических изменений, проявляющихся

как в биологических структурах так и в составе биологических жидкостей. Отмечено, что биологические среды реагируют на радиационное воздействие через совокупность прямых повреждений макромолекул и опосредованных эффектов, связанных радиолизом воды, генерацией активных радикалов, нарушением межмолекулярных взаимодействий и перестройкой физико-химических свойств среды.

Установлено, что тепловые нейтроны обладают высокой эффективностью взаимодействия с лёгким элементами, прежде всего с водородом, что обуславливает выраженную локальность и биологическую значимость повреждений даже при низках потоках. Это приводит к изменениям в белковых, липидных, и водных структурах биожидкостей, сопровождающимся характерными спектральными сдвигами, регистрируемыми методами ИК-спектроскопии, рамановской спектроскопии ЯМР.

Литературные данные свидетельствуют, что белки являются наиболее уязвимой фракцией: они подвергаются окислению, карбонилированию, нарушению вторичной и третичной структуры. Липиды демонстрируют пероксидное окисление, разрушение фосфолипидного слоя и образование лизоформ. Структуры воды в биожидкостях претерпевают перераспределение между свободными и связанными фракциями, изменение водородно-связной сети и колебательной динамики.

ГЛАВЫ 2. Материал и методы исследование

2.1. Инфракрасная спектроскопия: методика, приборы и подготовка образцов

ИК-спектроскопия является одним из широко используемых методов физико-химического анализа и применяется при исследовании органических и биологических объектов [90-98]. Информативность метода связана с тем, что каждая функциональная группа молекулы поглощает инфракрасное излучение в определённой области частот. Благодаря этому ИК-спектр представляет собой своеобразный «молекулярной отпечаток», позволяющий как качественно, так и количественно идентифицировать практически любые соединения, входящие в состав исследуемого образца [89, 94, 98-104].

«При анализе биологических жидкостей, в частности сыворотки крови, формируется сложный суммарный спектр, который возникает вследствие наложения полос поглощения от различных функциональных групп органических молекул (белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и других биополимеров). Многокомпонентность таких систем приводит к тому, что отдельные полосы поглощения перекрываются, взаимодействуют друг с другом и часто смещаются относительно своих стандартных положений, что существенно усложняет интерпретацию спектров» [105, с. 813].

Несмотря на сложность, анализ литературных данных показывает, что для большинства биологических жидкостей, в том числе сыворотки крови, имеется достаточно полная информация о спектрах её основных структурных компонентов. Сопоставление этих сведений позволяет надёжно выделить характерные полосы поглощения, наиболее информативные для диагностики биохимических и структурных изменений в образцах. Используя опубликованные данные, на ИК-спектре сыворотки крови (рисунок 2.1) были идентифицированы основные полосы поглощения, соответствующие ключевым функциональным группам биомолекул. Их характеристика приведена в таблице 2.1 [90, с. 283; 106, с. 128].

Таблица 2.1. – Частоты полос поглощения основных характеристических групп сыворотки крови здорового человека

Частота, ($см^{-1}$)	**Тип колебаний**	**Отнесение. Функциональные группы**
3462	Валентные, свободные – OH и $-NH$	Свободные гидроксильные и аминогруппы
3417	Валентные, свободные – NH (транс)	Свободные амидные группы
3228	Валентные, связанные $-NH$ (транс)	Связанные водородной связью амидные группы
3207 (3192)	Валентные, связанные – OH и $-NH$	Связанные водородной связью гидроксильные и аминогруппы
3020–3000	Валентные ($= CH$)	Ненасыщенные жирные кислоты, эфиры холестерола
2990–2950	Валентные асим. ($-CH_3$)	Эфиры холестерола, триглицериды
2950–2880	Валентные асим. ($-CH_2$)	Жирные кислоты, фосфолипиды
2880–2860	Валентные сим. ($-CH_3$)	Холестериновые эфиры, триглицериды, глицерин
2870–2830	Валентные сим. ($-CH_2$)	Жирные кислоты, фосфолипиды
1739–1732	Валентные ($C = O$)	Сложные эфиры, липиды, триглицериды
1720–1600	Амид I (валентные $C = O$)	Вторичная структура белков
1630–1560	Деформационные (NH_2)	Аминокислоты
1600–1480	Амид II (деформ. $N - H$, валентн. $C - N$)	Белки
1480–1430	Деформационные CH_2, CH_3	Липиды, триглицериды, фосфолипиды
1430–1360	Валентные сим. ($-COO^-$)	Аминокислоты
1342 (1339)	Валентные ($-C - N -$)	Ароматические амины
1330–1200	Амид III ($C - N$, деформац. $N - H$), валентные CH_2	Белки, углеводы
1311 (1300)	Деформационные ($-NH_3^+$)	Аминокислоты
1244 (1241)	Валентные асим. ($-PO_2^-$), валентные ($-C - O -$)	Фосфаты, ацетаты
1170	Валентные ($-CH_2 - O - P -$)	Фосфолипиды
1165	Валентные асим. ($-C - O -$), деформ. ($-C - OH$)	Жирные кислоты
1152	Валентные ($-C - O -$), деформац. ($-C - OH$)	Углеводы
1125	Маятниковые колебания CH_3	Ароматические системы
1104	Валентные ($-C - O - C -$)	5- и 6-членные циклы сахаров
1084 (1076)	Валентные сим. ($-PO_2^-$), деформационные ($-C - OH$)	Фосфатные группы, гидроксильные группы
1063	Валентные ($-C - O - C -$)	Фосфолипиды
1057	Валентные ($-C - O -$)	Сложные эфиры, спирты
1034 (1030)	Скелетный колебания Валентные ($-C - C - N -$)	Пептидная цепь, белки

Как показывают приведённые данные, основные биохимические параметры крови отличаются стабильностью на протяжении длительных временных интервалов, что может быть полезным для раннего выявления и мониторинга различных патологических состояний (таблица 2.2).

«Согласно ряду исследований, метод ИК спектроскопии позволяет обнаруживать тонкие структурные изменения в белково-липидных комплексах и других компонентах крови, тем самым расширяя возможности изучения патогенеза ряда заболеваний» [107, с. 203].

Этот подход также даёт возможность, с определённой степенью приближения, оценивать прочность и количество водородных связей в молекулярной структуре. В частности, для белковых соединений это проявляется смещением полос поглощения, ассоциированных с группами $-OH$ и $-NH$ (область около 3400 $см^{-1}$), а также $-C=O$ (область 1750-1710 и 1650 $см^{-1}$.

Таблица 2.2. – Основные составные компоненты цельной крови у детей различного возраста и взрослых [108, 109]

Составные части (компоненты)		5-7 дней	10-12 месяцев	10-12 лет	Взрослые
Вода	%	90-91	90-91	90-91	90-91
Сухой остаток	%	9-10	9-10	9-10	9-10
Гемоглобин	г/л	150-200	115-133	120-150	120-150
Общий белок	г/л	47-65	57-78	65-85	62-82
Альбумин	г/л	23-46	29-51	37-52	35-50
Фибриноген	г/л	1,25-3,0	2,0-4,0	2,0-4,0	2,0-4,0
Мочевина	Моль/л	2,5-4,5	3,3-5,6	3,33-8,32	3,33-8,32
Мочевая кислота	Моль/л	140-330	140-210	170-410	120-400
Креатинин	Моль/л	27-88	18-35	27-62	44-100
Глюкоза	Моль/л	1,7-4,2	2,5-4,7	3,3-5,5	3,3-5,5
Триацилглицерины	Моль/л	0,2-0,86	0,1-1,1	0,36-1,12	0,4-1,7
Холестерин общий	Моль/л	1,3-3,5	1,82-4,94	3,11-5,18	3,63-5,2
Фосфолипиды	г/л	0,75-1,7	1,0-2,75	1,8-2,95	1,25-2,75
Билирубин общий	Моль/л	100	8,5-20,5	8,5-20,5	8,5-20,5

«Как видно из приведённых данных, соотношение основных структурных элементов крови (вода, белковые фракции, липидные компоненты, низкомолекулярные метаболиты) изменяется в зависимости от возраста, однако их диапазоны остаются относительно стабильными, отражая сохранение фундаментальных физиологических механизмов гомеостаза» [103, с. 46-47].

«Кровь содержит около 90 % воды, что во многом определяет её физико-химические свойства. Остальную часть составляют белки, липиды, углеводы и минеральные вещества. Карбонильные группы ($C = O$), входящие в состав биомолекул, формируют полосы поглощения в области 1670-1700 $см^{-1}$. Изменение положения и интенсивности этих полос позволяет оценивать структурные изменения белков при воздействии различных внешних факторов, включая радиацию» [110, с. 151].

«Согласно литературным данным, метод ИК-спектроскопии позволяет приводить как качественный, так и количественный анализ биологический жидкостей, регистрируя изменения в составе и структуре их основных компонентов. Поскольку спектральные характеристики сыворотки крови чувствительны к нарушению белково-липидных взаимодействий и изменению состояния низкомолекулярных метаболитов, ИК-спектроскопия может служить основой для идентификации отдельных нозологических форм и раннего выявления патологических процессов» [111, с. 1980].

ИК уже давно рассматривается как высокочувствительный инструмент анализа биологических жидкостей, включая сыворотки крови. На рисунок 2.1. представлен типичный ИК-спектр сыворотки, характеризующийся сложной системной перекрывающихся полос, отражающих колебания основных функциональных групп. Первоначально метод ИК-спектроскопии применялся главным образом в онкологической диагностике, однако в дальнейшем область его использования значительно расширилась и стала охватывать различные клинические исследования [112, 113].

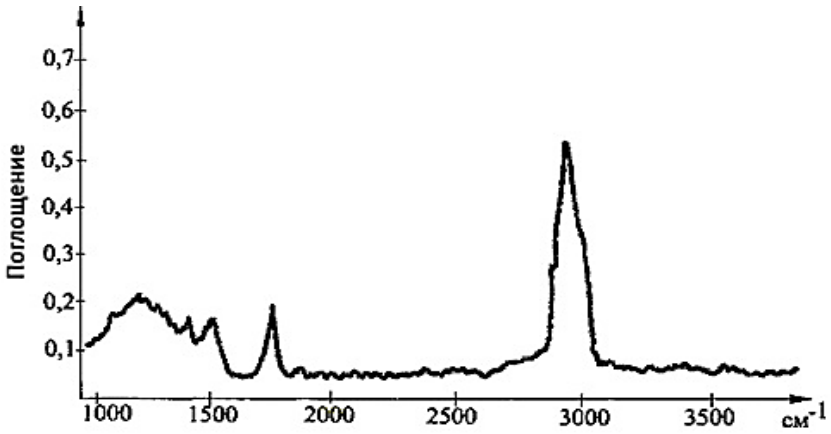

Рисунок 2.1. – Инфракрасный спектр сыворотки крови

«В ряде исследований показано, что ИК-спектры сыворотки крови при сахарном диабете 1 и 2 типов отличаются изменением интенсивности полос в областях 1180-1250 $см^{-1}$. Эти изменения связывают с увеличением содержания соединений, содержащих группы $-OH, C-O-C$ и $C-OH$, а также с накоплением углеводных метаболитов. Усиление полосы в области 1550-1570 $см^{-1}$может указывать на увеличение содержания NO-содержащих соединений» [104, с. 173; 105, с. 813].

Исследователи Франк Р. и Клюев Д. отмечают что, «различия в ИК-спектрах при диабете 1 и 2 типов. При диабете 1 типа наблюдается усиление поглощения в области 1010-1250 $см^{-1}$, тогда как при диабете 2 типа возрастает интенсивность полосы 1450-1480 $см^{-1}$, связанной с колебаниями CH_2-групп» [114, с. 273-275; 115, с. 32-34].

ИК-спектроскопии также применяется в офтальмологии. Спектральные признаки снижения минерализации при увеальной меланоме рассматриваются как дополнительный диагностический критерий неблагоприятного клинического прогноза [116, 117]. Полянская Н. К. показала, что «анализ слёзной жидкости позволяет выявлять этиологию и отслеживать динамику деструктивных заболеваний роговицы, что делает данный метод полезным инструментом в клинической практике» [118, с. 44].

Помимо этого, ИК-спектральный анализ биологических сред активно используется в судебной медицине [118], неврологии, хирургии и пульмонологии [119, 120], а также для оценки фармакокинетических

характеристик лекарственных препаратов и определения их качества [121]. Однако высокая чувствительность метода сопряжена с трудностями интерпретации спектров, что ограничивает его широкое внедрение в рутинную медицину.

В связи с этим появилась необходимость в модификации классического подхода к ИК-спектроскопии биологических жидкостей. Современные методы учитывают важнейшую особенность биологических систем – их целостность. Так, кровь рассматривается как динамически организованная водная биосистема, в которой структурное состояние воды определяется сложной сетью ассоциатов, связанных неупорядоченными водородными связями, непрерывно перестраивающимся под влиянием внешних и внутренних факторов [122, 124]. Анализ спектральных изменений в таких структурах позволяет на молекулярном уровне оценивать функциональное состояние организма и выявлять патогенетические механизмы различных заболеваний [123].

Для получения более информативных данных необходима регистрация спектров с использованием Фурье ИК-спектрометров, позволяющих фиксировать весь спектральный диапазон одновременно и повышающих точность измерений.

Каргаполов А. В. указывает, что «большинство исследований проводится на взрослом контингенте, тогда как данные по детям остаются ограниченными. В последние годы отмечается рост числа детей с поведенческими, психическими и психосоматическими нарушениями [124, с. 216].

«Снятие спектра с помощью ИК-Фурье спектрометра включает два основных этапа. На первом регистрируется интерферограмма – зависимость интенсивности выходного светового потока от оптической разности хода между двумя когерентными пучками, образующимися при разделении исходного излучения. На втором этапе выполняется преобразование Фурье. Данная операция требует значительных вычислительных ресурсов, поэтому широкое применение метод получил только с развитием современных вычислительных систем» [105, с. 813-814].

В данной работе использовался ИК-Фурье спектрометр IRAffinity – 1S (Shimadzu, Япония). Прибор оснащён высокостабильным интерферометром с подвижным и неподвижным зеркалами и герметической оптической системой, что обеспечивает устойчивость измерений. Типовая оптическая схема Фурье-спектрометр представлена на рисунок 2.2.

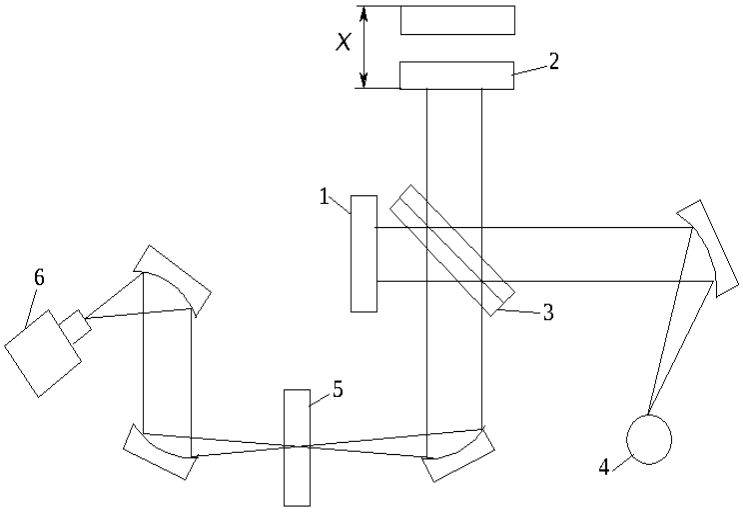

Рисунок 2.2. – Оптическая схема Фурье-спектрометра: 1 – неподвижное зеркало; 2 – подвижное зеркало; 3 – светоделительная пластина (светоделитель); 4 – источник излучения; 5 – исследуемый образец; 6 – детектор излучения

«Интерферометр содержит два взаимно перпендикулярных зеркала - неподвижное 1 и подвижное 2 и полупрозрачную светоделительную пластину 3, расположенную в месте пересечения падающих пучков излучения и пучков, отраженных от обоих зеркал. Пучок излучения от источника 4, попадая на пластину 3, разделяется на два пучка. Один из них направляется на неподвижное зеркало 1, второй - на подвижное зеркало 2; затем оба пучка, отразившись от зеркал, выходят через светоделитель из интерферометра в одном и том же направлении. Далее излучение фокусируется на образце 5 и поступает на детектор излучения 6. Два пучка отличаются друг от друга оптической разностью хода, величина которой меняется в зависимости от положения подвижного зеркала. В результате интерференции пучков интенсивность результирующего потока периодически меняется (модулируется). Частота модуляции зависит от частоты падающего излучения и смещения подвижного зеркала x. В результирующей интерферограмме выделяется так называемая

точка нулевой разности хода, или точка белого света. В этой точке для всех частот наблюдается максимум; от нее ведут отсчет смещения подвижного зеркала. При поглощении образцом излучения любой частоты наблюдается уменьшение интенсивности интерферограммы, соответствующей этой частоте. После проведения Фурье-преобразования в полученном спектре наблюдается полоса поглощения образца. Преобразование Фурье первичного сигнала, полученного с аппарата, осуществляли на компьютере в программной среде $LabSolutions\ IR$» [103, с. 46-47].

«При выполнении работы использовались приставки, входящие в комплект поставки аппарата: на пропускание; горизонтальная приставка неполного внутреннего отражения, устойчивая к воздействию агрессивных сред. Использование приставки неполного внутреннего отражения позволило исследовать высушенные образцы биологической жидкости» [102, с. 273; 103, с. 46-47].

В данной диссертационной работе исследовали цельную кровь, сыворотку крови и куриного яйца. Последнюю использовали в качестве модельного биологического образца. Образцы цельной крови и сыворотки куриного яйца были получены от клинически здорового мужчины в возрасте 29 лет. После забора кровь центрифугировали, чтобы отделить сыворотку. Полученную сыворотку в дальнейшем использовали для спектральных и биохимических исследований.

Перед регистрацией ИК-спектров образцы подготавливали с соответствии с принятой в работе методикой. Сначала цельную кровь, сыворотку крови и сыворотку куриного яйца наносили тонким слоем на полистирольную подложку. После этого образцы оставляли при комнатной температуре более чем на 3 часа. За это время происходило удаление свободной воды из исследуемого материала.

Удаление воды было необходимо, поскольку она имеет собственные полосы поглощения в ИК области и при её большом содержании может затруднять регистрацию и последующий анализ спектров. После высушивания

образцов смешивали с оптически чистым бромидом калия (KBr). Получению смесь прессовали до образования прозрачных таблеток.

Подготовленные таким образом таблетки использовали для регистрации ИК-спектров. Применение KBr позволяло проводить измерения в широком диапазоне волновых чисел и исследовать основные компоненты биологических образцов, в том числе белки, липиды и углеводы. Регистрацию ИК-спектров выполняли на ИК-Фурье спектрометре $\mathrm{IRAffinity-1S}$ в диапазоне 4000-400 $см^{-1}$. Выбранный диапазон включает основные полосы поглощения функциональных групп биомолекул, соответствующие колебаниям связей $O-H, N-H, C=O, C-N$ и $C-H$. Применение данной методики обеспечило получение воспроизводимчх и информативных ИК-спектров исследуемых образцов.

Рассмотрим наиболее распространённую методику приготовления твёрдых образцов в виде прессованных таблеток. Данный метод был впервые применён в Германии и Америке и с тех пор широко используется в ИК-спектроскопии [125-128].

Суть метод заключается в следующем. Небольшое количество исследуемого материала (например, бактериальной биомассы) тщательно растирают в порошок и гомогенизируют с KBr, выступающим в роли матрицы, в агатовой ступке. Получению смесь прессуют в специальной форме в таблетки в течение 1-3 минут под давлением порядка 10-12 т/см^2.

Для попадание измеряемых концентраций в рабочий диапазон необходимо корректно подобрать массу образца. При недостаточной массе пики поглощения на спектрограмме будут слабыми, что затруднит как качественный, так и количественный анализ. В случае избытка образца максимумы поглощения могут превысить пределы измеряемого диапазона.

Прессование на воздухе может приводить к помутнению таблетки за короткое время даже при хранении в сухой атмосфере из за высокой гигроскопичности KBr, что проявляется в появлении полос адсорбированной воды углекислого газа в спектре.

Получение микротаблеток. «Современные микропрессформы позволяют получать таблетки диаметром 1,5 и 0,5 мм, для чего требуется менее 4 мг KBr и менее 0,01 мг исследуемого вещества. Главное преимущество этого подхода – возможность количественного анализа при наличии малых количеств материала. Для таких размеров удобно использовать настольные прессы, позволяющие формовать таблетки вручную без значительных усилий. После прессования прозрачную таблетку KBr с включённым образцом закрепляют в специальном держателе и помещают в измерительный канал спектрофотометра для регистрации ИК-спектра поглощения» [128, с. 47-48].

«Следует отметить, что поглощение воды KBr возможно не только из атмосферы. Сам процесс измельчения KBr приводит к значительному увеличению интенсивности полос поглощения воды в ИК-спектре таблеток, причём интенсивность почти прямо пропорциональна времени растирания. Однако использование встроенных функцией вычитания фона (например, вклада паров воды и CO_2) в программном обеспечении современных Фурье спектрометров позволяет минимизировать этот недостаток» [127, с. 50-52].

Несмотря на отмеченные ограничения, метод таблетивирования обладает существенными преимуществами перед альтернативными методиками. Он позволяет получать высококачественные ИК-спектры твёрдых веществ, зачастую недостижимые другими способами. Именно этим объясняется его повсеместное использование, о чём свидительствует тот факт, что большинство ИК-спектров в научной литературе получены методом прессования с KBr.

Ключевым преимуществом является отсутствие мешающих полос поглощения растворителя, поскольку KBr не имеет собственных полос поглощения в спектральном диапазоне 2-25 мкм. Светорассеяние в таких таблетках находится в допустимых пределах. Кроме того, таблетки позволяют точно контролировать концентрацию и толщину слоя, что делает их пригодными для количественного анализа.

«Методом прессования с KBr особенно полезен для образцов, которые: 1) нерастворимы в обычных растворителях; 2) является аморфными или имеют

стабильную кристаллическую структуру; 3) не содержат ионов, склонных к обмену» [128, с. 164].

Спектральные данные представляют в виде зависимости коэффициента поглощения от длины волны (волнового числа), то есть через две переменные – интенсивность и положение полосы. Выбор способа выражения этих параметров зависит от условий эксперимента, области исследования и целей последующего использования данных.

Коэффициент интенсивности, толщина слоя и концентрация могут быть выражены в различных единицах: толщина в мм или см; концентрация в весовых или объёмных процентах, г/л, мг/мл, моль/л и т. д.

При исследовании вещества обычно регистрируют общий спектр в диапазоне 4000-400 $см^{-1}$, который позволяет визуализировать все области ИК-поглощения образца. Такие спектры содержат характеристические полосы, используемые для качественного анализа, а также полосы поглощения гидроксильных групп (воды) в области 3200-3600 $см^{-1}$. В зависимости от решаемых задач для детального изучения может быть выделена конкретная спектральная область.

2.2. Методика измерения малых потоков тепловых нейтронов и облучения образцов

В рамках настоящего исследования для формирования и регистрации малых потоков тепловых нейтронов использовался плутоний-бериллиевый ($Pu - Be$) нейтронный источник, относящийся к радиоизотопным источникам типа (α, n). Источники данного класса широко применяются в ядерно-физических и радиобиологических экспериментах благодаря стабильности выходных параметров и возможности длительной эксплуатации. Выбор $Pu - Be$ источника нейтронов обусловлен его высокой стабильностью, длительным сроком службы и возможностью формирования воспроизводимых потоков теповых нейтронов при использовании стандартных замедляющих материалов. В отличие от импульсных нейтронных генераторов, $Pu - Be$ источник не требуют сложных систем питания и обеспечивают непрерывный режим

облучения, что особенно важно при исследованиях эффектов малых доз нейтронного воздействия.

В качестве активного материала источника использовался изотоп плутония Pu^{239}, получаемый в результате цепочки ядерных превращений:

$$^{238}_{92}U(n,\gamma)^{239}_{92}U \xrightarrow{\beta^-,\ T_{1/2}=23{,}5\text{ мин}} {}^{239}_{93}Np \xrightarrow{\beta^-,\ T_{1/2}=2{,}23\text{ дн.}} {}^{239}_{94}Pu \qquad (2.1)$$

Изотоп Pu^{239} является долгоживущим α-излучателем с периодом полураспада $T_{1/2} = 2{,}436 \cdot 10^4$ лет. В его α-спектре доминируют линии с энергиями 5,157 МэВ (73 %), 5,145 МэВ (15 %) и 5,107 МэВ (12 %). Гамма излучения данного изотопа имеет малую интенсивность, а основные γ-линии с энергиями 39,5 и 100 кэВ эффективно безопасно для персонала.

Генерация нейтронов в $Pu - Be$ источнике происходит в результате реакции:

$$^{9}_{4}Be + {}^{4}_{2}\alpha \rightarrow {}^{12}_{6}C + {}^{1}_{0}n + Q \qquad (2.2)$$

Максимальный выход нейтронов источника составлял порядка $g \approx 2 \cdot 10^6$ нейтрон·Ки$^{-1}$·с$^{-1}$.

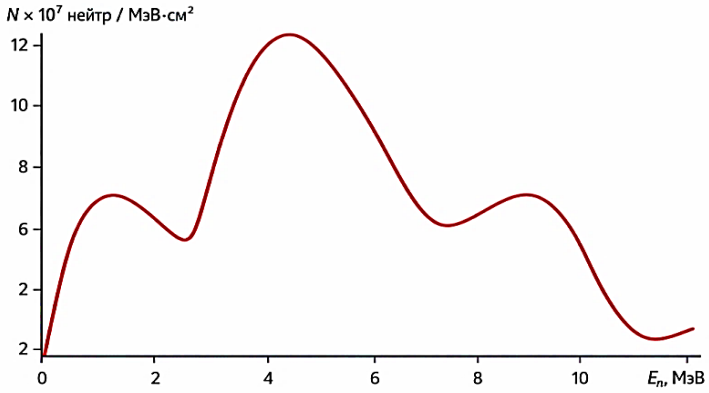

Рисунок 2.3. – Энергетический спектр нейтронов $Pu - Be$ источника

Энергетических спектр испускаемых нейтронов лежит в диапазоне от 0,5 до 10 МэВ и характеризуется выраженным максимумом в области около 4 МэВ (рисунок 2.3).

Источник изготовлен из интерметаллического соединения $PuBe_{13}$, микрокристаллы которого равномерно распределены в бериллиевой матрице.

Для защиты от нейтронного излучения и формирования теплового спектра источник размещался в массивном парафиновом блоке.

Для замедления быстрых нейтронов использовался парафин, эффективно снижающий энергию нейтронов за счёт упругих столкновений с ядрами водорода. Конструкция установки включила центральный канал быстрых нейтронов и окружающий его канал тепловых нейтронов. Такая геометрия обеспечивала пространственную стабилизацию нейтронного поля и воспроизводимость условий облучения образцов.

Для определения плотности потока тепловых нейтронов применялся активационный метод, основанный на регистрации наведённой радиоактивности в детекторе с известными ядерно-физическими параметрами.

Число радиоактивных ядер, образующихся в детекторе за единицу времени, определяется выражением:

$$N = fn\sigma, \tag{2.3}$$

где f – плотность потока тепловых нейтронов, $\text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$; n – чисел ядер-мишеней в детекторе; σ – эффективное сечение захвата тепловых нейтронов.

Скорость распада наведённых радиоактивных ядер описывается уравнением:

$$\frac{dN_t}{dt} = -\lambda N_t \tag{2.4}$$

где λ – постоянная распада, N_t – число радиоактивных ядер в моменту времени t.

Изменение числа радиоактивных ядер за интервал времени dt равно:

$$dN_t = Ndt - \lambda N_t dt \tag{2.5}$$

После интегрирование получаем:

$$N_t = \frac{fn\sigma}{\lambda}(1 - e^{-\lambda t}) \tag{2.6}$$

Активность детектора в момент окончания облучения определяется выражением:

$$A_t = \lambda N_t = f n \sigma (1 - e^{-\lambda t}) \quad (2.7)$$

Отсюда плотность потока тепловых нейтронов равна:

$$f = \frac{A_t}{n\sigma(1-e^{-\lambda t})} = \frac{A_t}{n\sigma\left(1-e^{-0{,}693t/T_{1/2}}\right)}. \quad (2.8)$$

Погрешность определения плотности потока тепловых нейтронов определялась с учётом статистической неопределённости регистрации γ-квантов, погрешности калибровки спектрометра, а также неопределённости значений эффективного сечения захвата и массы активационного детектора. Суммарная относительная погрешность измерений не превышала 10–15 %, что является приемлемым для экспериментов с малыми потоками тепловых нейтронов.

При условии $t \gg T_{1/2}$ формула (2.8) упрощается до вида:

$$f = \frac{A_t}{n\sigma} \quad (2.9)$$

В качестве активационного детектора использовался изотоп Mn^{55}, характеризующийся высоким сечением радиационного захвата тепловых нейтронов (13,3 барн). В результате ядерной реакции:

$$Mn^{55} + n \rightarrow Mn^{56} + \gamma \quad (2.9)$$

образуются радиоактивный изотоп Mn^{56} с периодом полураспада 2,58 ч.

Для исключения вклада надтепловых нейтронов используются кадмиевый фильтр толщиной 1-2 мм. Активность, обусловленная исключительно тепловыми нейтронами, определялась по выражению:

$$A_t = A_0 - A_\varphi, \quad (2.10)$$

где A_0 – активность без фильтра, A_φ– активность с кадмиевым фильтром.

Регистрация γ-излучения изотопа Mn^{56} осуществлялась с помощью сцинтилляционного γ-спектрометра по наиболее интенсивной линии с энергией 841 кэВ.

Для определения плотности потока тепловых нейтронов исследуемый образец помещался в канал тепловых нейтронов на время экспозиции 90 минут. Перед проведением измерений аппаратура подключалась к электросети и предварительно прогревалась в течение 10 минут для стабилизации рабочих параметров детекторов и электронных блоков.

Энергетическая калибровка γ-спектрометра выполнялась с использованием стандартных источников Cs^{137} и K^{40}, обладающих характерными γ-линиями с энергиями 661 и 1461 кэВ соответственно. После завершения процедуры калибровки осуществлялось измерение радиационного фона, обусловленного воздействием космического излучения и естественных радиоактивных источников окружающей среды. Регистрация фонового излучения проводилась в течение 20 мин.

Далее выполнялось измерение активности облучённой мишени с использованием γ-спектрометра. Полученные значения активности подставлялись в выражение (2.8), на основании которого рассчитывалась плотность потока тепловых нейтронов. Экспериментальные данные, отражающие зависимость плотности потока тепловых нейтронов от времени облучения, приведены в таблице 2.3.

Таблица 2.3. – Значения потока тепловых нейтронов в зависимости от времени облучения

Время облучения, сутки	Поток нейтронов, н $\cdot$ см$^{-2}$
3	$1{,}3 \cdot 10^8$
5	$2{,}16 \cdot 10^8$
7	$3{,}02 \cdot 10^8$

Установка для размещения нейтронного источника представляла собой защитный бак кубической формы, изготовленный из листового железа толщиной 4 мм. Геометрические размеры бака составляли 70 × 70 × 70 см (рисунок 2.4). Внутреннее пространство бака было заполнено парафином, выполняющим функцию замедлителя нейтронов. В центральной части конструкции располагался вертикальный канал, предназначенный для размещения $Pu-Be$ нейтронного источника. Высота канала составляла 25 см, диаметр - 3,7 см. Канал

быстрых нейтронов был окружён парафиновым слоем толщиной 5 см, обеспечивающим эффективное замедление нейтронов. За этим слоем находился канал для тепловых нейтронов шириной 2,6 см. В данном слое располагается исследуемые образцы. Такое расположение элементов установки обеспечивало прохождение тепловых нейтронов через образцы и позволяло проводить облучение в одинаковых условиях.

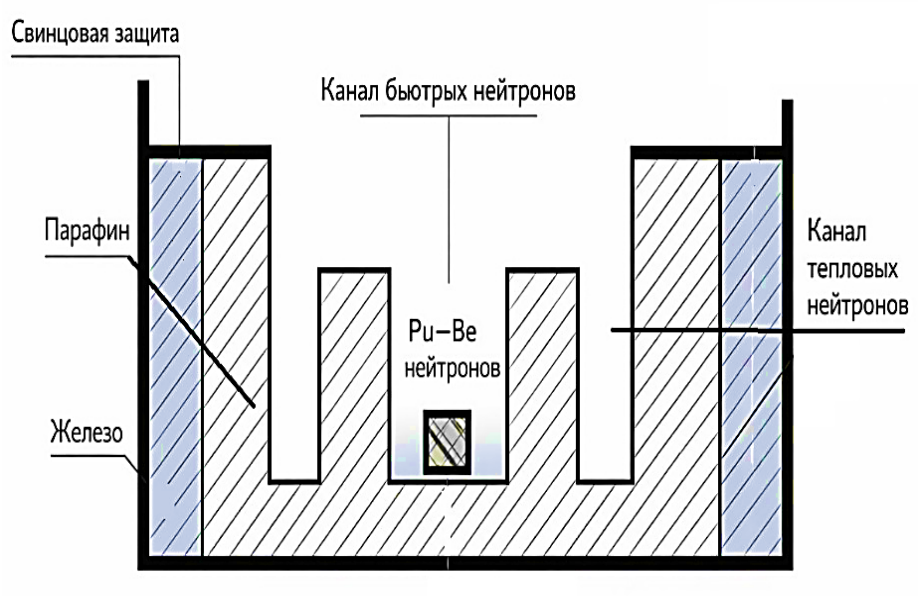

Рисунок 2.4. – Блок для размещения нейтронного источника

Облучение образцов проводили при различных временах экспозиции, в результате чего получали различные интегральные потоки тепловых нейтронов. Температура в пределы облучения поддерживалась на уровне 28 ℃.

Для всех экспериментов фиксировали время облучения и соответствующее ему значение интегрального потока тепловых нейтронов. Эти параметры учитывали при сравнении полученных спектральных и физико-химический изменений исследуемых образцов.

2.3. Биохимический анализ сыворотки крови

Биохимический анализ сыворотки крови использовали для оценки функционального состояния исследуемых образцов. С помощью данного метода определяли основные показатели, характеризующие обменные процессы, активность ферментов, а также состояние белкового, углеводного и липидного обмена. Сыворотка крови представляет собой сложную многокомпонентную

биологическую систему, включающую белки, аминокислоты, углеводы, липиды, метаболиты, ферменты и минеральные компоненты, изменения концентраций которых отражают как физиологическое состояние организма, так и развитие патологических процессов.

В рамках настоящего исследования биохимический анализ сыворотки крови использовался как вспомогательный, но принципиально важный метод, позволяющий:

- охарактеризовать исходное состояние биологического материала;
- выявить возможные изменения метаболических показателей;
- обеспечить корректную интерпретацию результатов инфракрасной спектроскопии;
- установить взаимосвязь между биохимическими параметрами и спектральными характеристиками сыворотки крови.

Забор крови осуществлялся в соответствии с общепринятыми медицинскими и этическими требованиями. Исследование проводилось с участием практически здорового взрослого добровольца мужского пола в возрасте 29 лет. Перед забором крови обследуемый находился в состоянии физиологического покоя и не принимал пищу в течение не менее 8–10 часов.

Кровь для анализа отбирали из локтевой вены методом венепункции с использованием одноразовых стерильных вакуумных систем. Процедура проводилась в утренние часы, что соответствует стандартным клинико-лабораторным рекомендациям.



Рисунок 2.5. – Получение сыворотки крови после после центрифугирования

В зависимости от дальнейших этапов исследования сыворотка использовалась либо немедленно, либо хранилась при температуре $+4$ ℃ в течение не более 24 часов. Для длительного хранения образцы могли быть заморожены при температуре -20 ℃.

Сыворотка крови содержит широкий спектр биохимические активные соединений, отражающих состояние различных органов и систем организма. Основными компонентами сыворотки являются: белки (альбумины, глобулины), углеводы и продукты их обмена, липиды и липопротеиды, ферменты, низкомолекулярные метаболиты, минеральные вещества и электролиты.

Изменение концентраций этих компонентов приводит к перестройке молекулярной структуры сыворотки, что, в свою очередь, отражается на её инфракрасных спектральных характеристиках.

Одним из ключевых показателей является общий белок сыворотки крови, который отражает суммарное содержание альбуминов и глобулинов. Белки играют важную роль в поддержании онкотического давления, транспорте веществ и регуляции метаболических процессов. Альбумины являются основной фракцией белков сыворотки и ответственны за транспорт жирных кислот, билирубина и лекарственных соединений. Глобулины включают иммуноглобулины и белки острой фазы.

Углеводный обмен оценивали по содержанию глюкоза в сыворотки крови. Данный показатель характеризует состояние энергетического обмена и может учитываться при анализе изменений, выявляемых в ИК-спектрах.

При оценке липидного обмена определяли содержание холестерина и триглицеридов. Изменения в составе липидов могут находить отражение в интенсивности полос поглощения, связанных с колебаниями групп CH_2 и CH_3

Ферментативные показатели сыворотки крови также характеризуют функциональное состояние организма. В рамках биохимического анализа могут определяться активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. Изменение активности этих ферментов связано с изменением функционального состояния клеток и тканей.

К основным минеральным компонентам сыворотки крови относятся кальций, натрий и калий. Их содержание связано с поддержанием водно-солевого равновесия и в определённой степени характеризует состояние внутренней среды организма.

Результаты биохимического анализа использовали для дополнительной оценки изменений в составе сыворотки крови. Сопоставление биохимических показателей с данными ИК-спектроскопии позволяет более полно рассмотреть происходящие изменения и установить возможную связь между составом сыворотки и её спектральными характеристиками.

Заключение к главе 2

Во второй главе приведено описание материалов и методов, использованных при проведении экспериментальных исследований.

На основании изложенного можно сформулировать следующие выводы:

1. Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (ИК-Фурье) является высокочувствительным и информативным методом анализа биологических жидкостей, в частности сыворотки крови. Метод позволяет регистрировать молекулярные «отпечатки» образцов за счёт характеристических полос поглощения функциональных групп основных биомолекул (белков, липидов, углеводов, аминокислот). Показана возможность как качественной, так и количественной интерпретации спектров, а также выявления тонких структурных изменений, связанных с внешними воздействиями и физиологическими состояниями.
2. В работе использовался спектрофотометр $IRAffinity-1S$ $(Shimadzu)$, оснащённый интерферометром Майкельсона и высокочувствительной системой детектирования, что обеспечило высокую точность и воспроизводимость измерений. Подготовка образцов осуществлялась методом прессования в таблетки с KBr, что позволило снизить влияние растворителя и использовать минимальные количества биоматериала.
3. В качестве источника нейтронного излучения применялся плутоний-бериллиевый $(Pu-Be)$ источник, обеспечивающий стабильный поток

нейтронов. С использованием парафинового замедлителя и специальной геометрии установки формировался поток тепловых нейтронов. Поток тепловых нейтронов определяли активационным методом с использованием детектора на основе изотопа Mn^{55}.

4. Биохимический анализ сыворотки крови проводили в соответствии с принятыми клиническими методами. На первом этапе осуществляли забор крови, после чего сыворотку отделяли центрифугированием. Далее определяли основные биохимические показатели исследуемых образцов.
5. В работе совместно использовали ИК-спектроскопию, нейтронное облучение и биохимический анализ. Это позволило оценить изменения свойств сыворотки крови при воздействии малых флюенсов тепловых нейтронов и сопоставить полученные спектральные данные с результатами биохимических исследований.
6. Подготовка образцов и регистрация ИК-спектров проводились по единой методике. Высушивание сыворотки и последующее приготовление таблеток с бромидом калия обеспечивали получение спектров с хорошо выраженными полосами поглощения, что было необходимо для дальнейшего анализа изменений в исследуемых образцах.

ГЛАВА 3. Исследование влияние внешних факторов на спектральные свойства сложных биологических соединения методом ИК спектроскопии

3.1. Исходные ИК-спектры крови, сыворотки крови и куриного яйца

В данном параграфе представлены и проанализированы исходные инфракрасные спектры цельной крови человека, сыворотки крови и модельного образца сыворотки куриного яйца, зарегистрированные до воздействия внешних факторов. Исходные ИК-спектры служат базовой точкой отсчёта для последующего анализа изменений спектральных параметров, обусловленных хранением на воздухе и воздействием тепловых нейтронов [1-6-А].

Цельная кровь представляет собой сложную многокомпонентную биологическую систему, включающую форменные элементы (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты) и плазму, что приводит к наложению вкладов различных молекулярных компонентов в инфракрасный спектр. Наличие клеточных структур, мембран и внутриклеточных компонентов обусловливает высокую спектральную сложность и затрудняет интерпретацию отдельных полос поглощения.

В отличие от цельной крови, сыворотка крови является более однородной системой, не содержащей форменных элементов, и характеризуется доминирующим вкладом белковых и липидных компонентов. Это обеспечивает более стабильную форму спектров и облегчает идентификацию полос поглощения, соответствующих функциональным группам белков, аминокислот и липидов. В связи с этим сыворотка крови выбрана в данной работе в качестве основного объекта диссертационного исследования.

Сыворотка куриного яйца использована как модельный биологический объект, поскольку, подобно сыворотке крови, она содержит значительное количество белков с близкими функциональными группами. Сравнительный анализ исходных ИК-спектров позволяет выявить общие и отличительные спектральные особенности, а также определить вклад белковых компонентов в формирование инфракрасных спектров исследуемых систем.

При анализе ИК-спектров поглощения цельной крови, зарегистрированных в диапазоне волновых чисел 400-4000 $см^{-1}$, обнаружен сложный набор полос, отражающий много компонентный биохимический состав данного биологического объекта [6-А, 7-А, 9-А, 11-А]. На рисунке 3.1 представлены исходные ИК-спектры поглощения цельной крови.



Рисунок 3.1. – Исходные ИК-спектры поглощения цельной крови человека в диапазоне 1000-4000 $см^{-1}$

В высокочастотной области спектра ($3600 - 3007\ см^{-1}$) наблюдается широкая интенсивная полоса поглощения, обусловленная валентными колебаниями гидроксильных ($O - H$) и амидных ($N - H$) групп, входящих в состав белков, липидов и связанных молекул воды. Наличие и ширина данной полосы указывают на развитую систему водородных связей в биологической среде крови.

Интенсивные полосы поглощения в области $2960, 2936, 2870, 2860$ и $2850\ см^{-1}$ обусловлены валентными колебаниями $C - H$ связей метильных и метиленовых групп, характерных для липидных фрагментов и углеводных компонентов биомолекул.

Полоса при 1456 $см^{-1}$, вероятно, связана с деформационными колебаниями связей $C - N$ и $N - H$, характерными для белковых и липидных компонентов сыворотки крови.

В низкочастотной области спектра фиксируются менее интенсивные полосы при 1240, 1165, 1085 и 624 $см^{-1}$, которые соответствуют валентным

колебаниям связей $C-O-C$, а также деформационным и валентным колебаниям $C-N$ связей, присутствующих в структурах углеводов, фосфолипидов и белков.

Таким образом, анализ исходных ИК-спектров цельной крови показывает, что наибольшую информативность несут полосы, связанные с амидными группами белков и карбонильными $C=O$ связями, а также колебания $C-N$ и $C-O$ функциональных групп. Эти спектральные характеристики могут быть использованы в дальнейшем для оценки структурных изменений биомолекул крови под воздействием внешних факторов.

Сыворотка крови является сложной биологической системой, в которой основную роль играют белковые компоненты (альбумин, глобулины), а также липиды, углеводы и низкомолекулярные метаболиты. ИК спектроскопия позволяет получить интегральную информацию о молекулярной структуре данных компонентов и характере их внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий.

Исходные ИК-спектры сыворотки крови, зарегистрированные в диапазоне волновых чисел 4000-400 $см^{-1}$, характеризуются наличием набора интенсивных и слабоинтенсивных полос поглощения, отражающих вклад основных функциональных групп биомолекул. Исходный ИК-спектр сыворотки крови человека представлен на рисунке 3.2 [1-5-А].

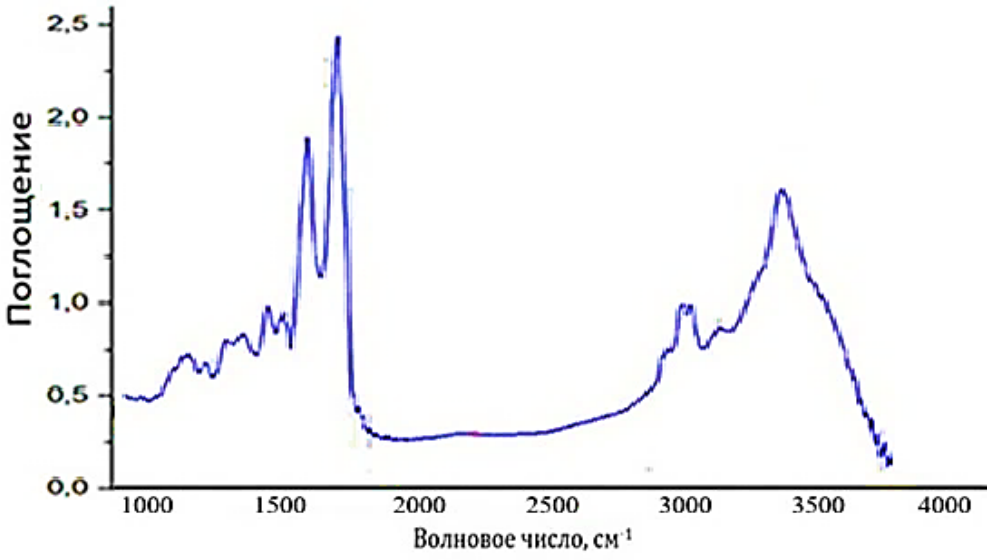

Рисунок 3.2. – Исходный ИК-спектр поглощения сыворотки крови человека в диапазоне 1000-4000 $см^{-1}$

Анализ спектров показывает, что наибольшая информативность сосредоточена в средневолновой области, связанной с колебаниями пептидных связей белков.

Это позволяет использовать полученные спектры как эталонные при дальнейшем анализе изменений, вызванных внешними воздействиями, и проводить корректное сравнение модификаций молекулярной структуры белков и других компонентов [14-А, 16-А].

В высокочастотной области ИК-спектра, в интервале $3600 - 3000\ см^{-1}$, наблюдается широкая полоса поглощения с максимумом около $3300 - 3400\ см^{-1}$,. Она связана с валентными колебаниями гидроксильных и аминных групп. Широкий характер этой полосы обусловлен наличием водородных связей, которые характерны для белковых компонентов и водной среды сыворотки крови.

В области $2960 - 2850\ см^{-1}$, регистрируются полосы, соответствующие валентным колебаниям $C - H$-связей метильных и метиленовых групп. Эти полосы в основном связаны с липидными компонентами и углеводородными фрагментами боковых цепей аминокислот. Несколько максимумов в данном интервале указывают на присутствие различных углеводородных групп в составе биологических компонентов сыворотки.

Область $1700 - 1500\ см^{-1}$, представляет особый интерес при анализе белковых компонентов. В ней расположены основные амидные полосы. Полоса при $1650 - 1655\ см^{-1}$, относится к амиду 1 и связана преимущественно с валентными колебаниями карбонильной группы пептидной связи. Положение и форма этой полосы зависят от вторичной структуры белков и связаны, в частности, с вкладом α-спиральных и β-складчатых структур.

Полоса в области $1540 - 1550\ см^{-1}$ соответствует амиду 2. Её формирование связано главным образом с деформационными колебаниями $N - H$-связей и валентными колебаниями $C - N$. Изменения интенсивности и положения полосы амид 2 могут быть связаны с изменением состояния белковых компонентов сыворотки.

В диапазоне $1450 - 1400\ см^{-1}$ наблюдаются полосы, связанные с деформационными колебаниями CH_2 и $C - H$-групп, а также с колебаниями карбоксильных групп аминокислотных остатков. Изменения в этой области могут отражать изменения в составе и конформационном состоянии белковых компонентов.

Низкочастотная часть спектра в области $1300 - 900\ см^{-1}$ содержит ряд полос, связанных с колебаниями $C - O$, $C - O - C$ и $P - O$-связей. В формировании этих полос участвуют различные компоненты сыворотки крови, включая углеводы, фосфолипиды, нуклеотиды и другие биомолекулы. В интервале $1240 - 1080\ см^{-1}$ также может наблюдаться вклад полосы амид 3, чувствительной к изменениям пространственной структуры белков.

На рисунке 3.3. представлен исходный ИК-спектры сыворотки куриного яйца, отражающий характерное распределение полос поглощения, соответствующих основным функциональным группам биомолекул.

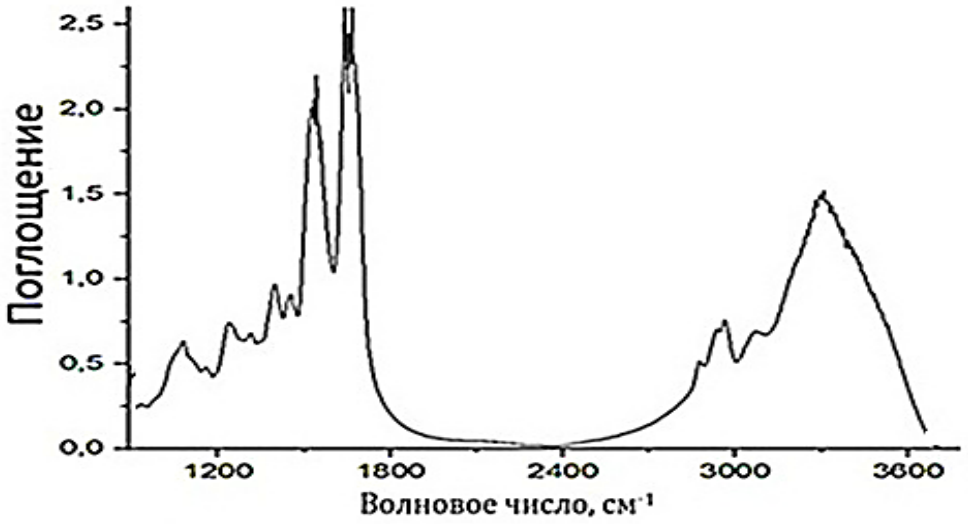

Рисунок 3.3. – Исходный ИК-спектр сыворотки куриного яйца в диапазоне 400-4000 $см^{-1}$

Исходный ИК-спектр сыворотки куриного яйца характеризуется наличием набора полос поглощения, отражающих колебания основных функциональных групп, входящих в состав белков, липидов, аминокислот, органических кислот и фосфорсодержащих соединений. Спектральный профиль сыворотки куриного яйца формируется преимущественно за счёт белковых компонентов (альбумины,

глобулины), липидных фракций, а также низкомолекулярных органических соединений, входящих в состав биологической матрицы.

Как видно из рисунок 3.3, в области $1000 - 1100\ см^{-1}$ наблюдается полоса поглощения около $1078 - 1080\ см^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям связей $C-O$, а также симметричным колебаниям фосфатных группы (PO_2^-, PO_4^{3-}), входящих в состав фосфолипидов, фосфопротеинов и других фосфорорганических соединений. Наличие данной полосы свидетельствует о присутствии структурированных фосфатных и карбоксилсодержащих компонентов, играющих важную роль в формировании пространственной организации молекулярной матрицы. В области $1200 - 1400\ см^{-1}$ в спектре сыворотки куриного яйца выделяются полосы поглощения около 1238, 1311-1338 и $1396\ см^{-1}$. Данная область связана главным образом с колебаниями амидных групп белков, связей $C - N$, а также метильных и метиленовых групп. Полоса около 1238 $см^{-1}$ может быть обусловлена вкладом фосфатных групп, что указывает на присутствие в исследуемом образце фосфорсодержащих соединений. Полосы в диапазоне $1311 - 1338\ см^{-1}$ характерны для белковых и липидных компонентов, тогда как полоса при 1396 $см^{-1}$ связана с колебаниями карбоксилатных и метильных групп. Вблизи 1454 $см^{-1}$ располагается полоса, связанная с колебаниями $C - H_2$ и $C - H_3$ группами. Её присутствие обусловлено вкладом липидов, жирных кислот и отдельных фрагментов белковых молекулы. Это позволяет сделать вывод о заметном участии липидных компонентов в формировании спектра сыворотки куриного яйца. В высокочастотной области спектра регистрируются полосы около 2873, $2935 - 1937$ и $2962\ см^{-1}$. Они относятся к колебаниям метильных и метиленовых групп, входящих в состав белков и липидов. Положение и интенсивность этих полос отражают особенности строения алифатических цепей исследуемых соединений. Полоса в диапазоне $3066 - 3070\ см^{-1}$ связана с колебаниями ароматических фрагментов белковых молекул. Её появление обусловлено присутствием аминокислот, содержащих ароматические кольца, в частности

фенилаланина, тирозина и триптофана. Это подтверждает наличие ароматических структур в составе белков сыворотки куриного яйца.

3.2. Изменение частот ИК-полос поглощения сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца при хранении на воздухе

Для чистоти экспериментов и достоверности результатов требуется исключение побочных факторов влияющих на конечный результат эксперимента. При облучении объекта исследования тепловыми нейтронами разных потоков появляется проблема временной эволюции их свойств. С целью исключения этого фактора на результат исследования, в данном параграфе исследовано влияние хранения образцов сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца на воздухе в течение нескольких суток на частоты характерных ИК-полос поглощения [1-5-А, 10-А, 12-17-А, 20-А]. Анализ временной эволюции спектральных параметров позволяет выявить структурные и конформационные изменения молекулярных компонентов, происходящие под воздействием факторов внешней среды.

Выбор сыворотки крови в качестве объекта исследования связан с тем, что при хранении цельной крови в течение нескольких суток происходят изменения форменных элементов, в том числе их агрегация и постепенная деградация. При этом изменяются и реологические свойства крови, а неоднородность образцов может затруднять получение воспроизводимых ИК-спектров. Поэтому длительное хранение цельной крови не всегда позволяет получить стабильные спектральные характеристики для последующего анализа.

По сравнению с цельной кровью сыворотка крови и сыворотка куриного яйца при хранении на воздухе сохраняют более стабильные свойства, что делает их удобными объектами для регистрации ИК-спектров в различные сроки. Основу исследуемых систем составляют белки и липиды, поэтому изменения положения и интенсивности полос поглощения могут быть связаны с изменением микроокружения функциональных групп, межмолекулярных взаимодействий и структуры биомолекул.

Использование сыворотки куриного яйца в качестве модельного объекта представляет особый интерес, поскольку позволяет проследить изменения белковых структур в относительно простой биологической системе и выявить наиболее чувствительные к внешним воздействиям функциональные группы.

В процессе хранения образцов на воздухе могут происходить дегидратация, окислительные процессы и конформационные изменения белковых молекул. Указанные процессы находят отражение в ИК-спектрах в виде смещения полос поглощения, а также изменения их интенсивности и формы.

Для оценки влияния условий хранения на спектральные характеристики биологических образцов были зарегистрированы и проанализированы ИК-спектры сыворотки крови и сыворотки куриного яйца после 3, 5 и 7 суток выдержки на воздухе. Основное внимание уделялось полосам, связанным с колебаниями групп $C=O, N-H, C-H, P=O$ и $C-O$, чувствительных к состоянию водородных связей и структуре белков.

На рисунках 3.4 и 3.5 представлены ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток, иллюстрирующие характерные изменения спектрального профиля образцов. В таблице 2.1 приведены основные полосы поглощения и их отнесение соответствующим функциональным группам, отражающим структурные особенности белково-липидного комплекса.

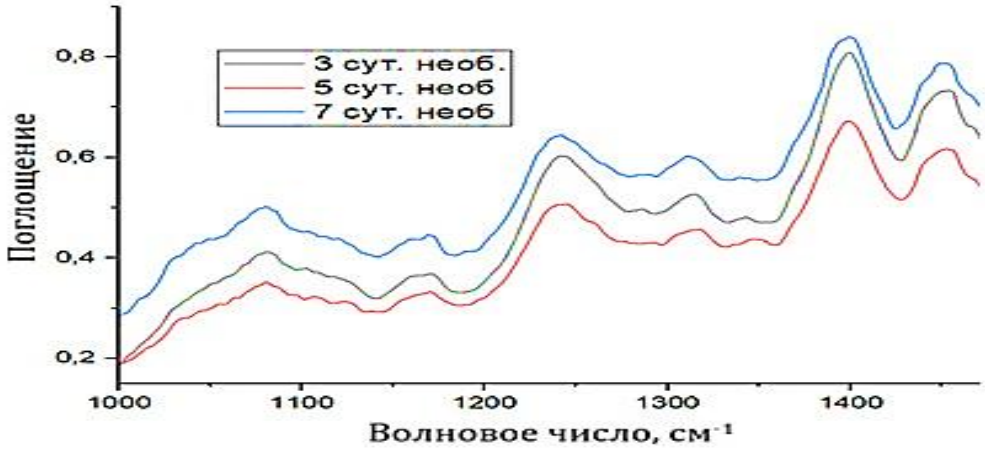

Рисунок 3.4. – ИК-спектр сыворотки крови человека после выдержки на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток в диапазоне 1000–1500 $см^{-1}$

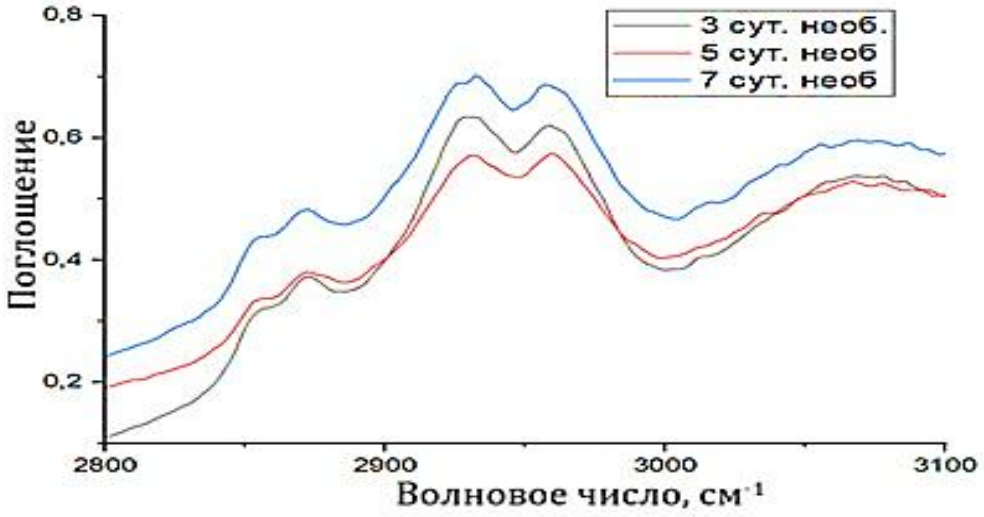

Рисунок 3.5. – ИК-спектр сыворотки крови человека после выдержки на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток в диапазоне 2800–3100 $см^{-1}$

Значения сдвигов максимумов ИК-полос поглощения сыворотки крови человека при выдержке на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1. – Сравнение сдвигов частот ИК-спектра сыворотки крови человека при выдержке на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток

№	3 сут. необ.	5 сут. необ.	Разность 3 и 5 сутки необ.	7 сут. необ.	Разность 3 и 7 сутки
	ν_3, $см^{-1}$	ν_5, $см^{-1}$	ν_3- ν_5	ν_7, $см^{-1}$	ν_3- ν_7
1	1082	1080	2	1080	2
2	1242	1244	-2	1242	0
3	1315	1317	-2	1311	4
4	1342	1346	-4	1342	0
5	1398	1398	0	1400	-2
6	1454	1452	2	1452	2
7	2872	2872	0	2872	0
8	2927	2931	-4	2931	-4
9	2958	2958	0	2956	2
10	3068	3066	2	3068	0

Как видно из таблицы 3.1., полоса поглощения 1082 $см^{-1}$ наблюдаемая после выдержки 3 суток, при выдержке до 5 суток сдвигается в низкочастотную область на 2 $см^{-1}$ и проявляется при 1080 $см^{-1}$, в дальнейшем до 7 суток выдержки не меняет частоту. Частота полосы поглощения 1242 $см^{-1}$ наблюдаемая после выдержки 3 суток, при выдержке 5 суток сдвигается в область высоких частот на 2 $см^{-1}$ и проявляется при 1244 $см^{-1}$. В спектрах выдержанных 7 суток, максимум этой полосы по сравнению с выдержанным 5 суток проявляет обратный сдвиг и проявляется при прежней частоте 1242 $см^{-1}$. При выдержке в течение трёх суток в спектре проявляется полоса поглощения при 1315 $см^{-1}$. К пятым суткам наблюдается её смещение в область высоких частот на 2 $см^{-1}$ регистрацией при 1317 $см^{-1}$. Однако при дальнейшем хранении сыворотки до 7 суток фиксируется обратное смещение данной полосы в низкочастотную область на 4 $см^{-1}$ до значения 1311 $см^{-1}$. Частота полосы поглощения 1342 $см^{-1}$ наблюдаемая после выдержки 3 суток, при выдержке 5 суток сдвигается в область высоких частот на 4 $см^{-1}$ и проявляется при 1346 $см^{-1}$. В спектрах выдержанных до 7 суток, наблюдается обратный сдвиг на 4 $см^{-1}$ и восстановление положения частоты полосы 1342 $см^{-1}$. Полоса поглощения 1398 $см^{-1}$ присутствует как на 3-и, так и на 5-е сутки выдержки без сдвигов. Однако при дальнейшем хранении сыворотки (до 7 суток) фиксируется смещение данной полосы в область высоких частот до 2 $см^{-1}$ и она проявляется при 1400 $см^{-1}$. Частота полосы поглощения 1454 $см^{-1}$ наблюдаемая после выдержки 3 суток, при выдержке 5 суток сдвигается в область низких частот на 2 $см^{-1}$ и проявляется при 1452 $см^{-1}$. В спектрах выдержанных до 7 суток, изменение положения полосы не наблюдается. Частота максимума полосы поглощения при 2872 $см^{-1}$ сохраняется неизменной в спектрах сыворотки при выдержке на 3, 5 и 7 суток. Полоса поглощения 2927 $см^{-1}$ наблюдаемая после выдержки 3 суток, при выдержке до 5 суток сдвигается в область высоких частот область на 4 $см^{-1}$ и проявляется при 2931 $см^{-1}$ при дальнейшей выдержке до 7 суток частота остается неизменным. Полоса поглощения при 2958 $см^{-1}$

фиксируется в спектре на третьи сутки выдержки и при выдержки до 5 суток частота данной полоса не изменяется. При дальнейшее выдержки до 7 суток её частота сдвигается в область низких частот на 2 $см^{-1}$ и регистрируясь при 2956 $см^{-1}$. Полоса поглощения с частотой 3068 $см^{-1}$ фиксируется в ИК-спектре сыворотки крови на 3 сутки. При выдержке до пятых суток данная полоса сдвигается в область низких частот на 2 $см^{-1}$ и проявляется при 3066 $см^{-1}$. В спектре сыворотки выдержанной до 7 суток, частота полосы сдвигаясь обратно восстановляется при 3068 $см^{-1}$.

Полоса поглощения при 1082 $см^{-1}$, ассоциируется с симметричными валентными колебаниями фосфатной группы $(-C-P=O)$, колебаниями в метафосфат-ионе (PO_3^-), а также симметричным деформационным колебаниями $(-C-O\text{H})$ в гидроксильных группах смещается на 2 $см^{-1}$ в низкочастотную область при выдержке до 5 и остается неизменным до 7 суток выдержки. Сдвиг полосы в низкочастотную область в начальном периоде до 5 суток может свидетельствовать об изменении микросреды функциональных групп связанных с: - окислением фосфорорганических соединениях; - усилением ионных взаимодействий из-за переупаковки белково-фосфатных комплексов; - усилением водородных связей гидроксильных гупп. Сохранение значения сдвинутой частоты до 7 суток выдержки свидетельствует о стабилизации возникшей структуры. Полоса1242 $см^{-1}$ соответствует колебанию связей $(C-N)$ и $(H-N)$ в амидных $(-CO-NH-)$ (Амид 3) группах белков и фосфорил групп $(O-P=O)$ в ДНК и РНК. Сдвиг полосы при 1242 $см^{-1}$ на 2 $см^{-1}$ в высокочастотную область (до 1244 $см^{-1}$) на 5-е сутки свидетельствует о появлении переходных конформационных перестроек белков, или ослабления взаимодействий с ионами фосфорилгрупп. Обратное восстановление частоты (1242 $см^{-1}$) на 7 сутки может указывать на дальнейшее восстановление исходной структуры. Полоса поглощения на частоте 1315 $см^{-1}$ (Амид 3) соответствует к колебаниям связей $(C-N)$ и $(N-H)$ в пептидах и аминогруппах ДНК и РНК или колебаниям метильных $(-CH_3)$ и метиленовых

($-CH_2$)-групп в белках, жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах. Сдвиг полосы при 1315 $см^{-1}$, в высокочастотную область до 1317 $см^{-1}$ (на 5 сутки), а затем — в низкочастотную область до 1311 $см^{-1}$ (на 7 сутки), может свидетельствовать о нестабильности микроструктуры в окружении липидных фракций и амидных групп, сопровождаемый обратимым изменением плотности упаковки вблизи белков, жирных кислот, фосфолипидов, триглицеридов. Полоса 1342 $см^{-1}$ ассоциирована с деформацинными колебаниями (CH_3) групп в аминокислотах, белках или липидах, возможен вклад групп ($C-N$) и ($N-H$) (Амид 3) в бельках. Высокочастотный сдвиг полосы при 1342 $см^{-1}$ до 1346 $см^{-1}$ на 5 сутки (и отсутствие изменений на 7 сутки) указывает на ослабление взаимодействия в окружении метильных (CH_3) групп ароматических аминокислот, белков или липидов в начале до 5 суток и дальнейшей стабилизацией возникшей структуры. Изложенные изменения так же могут быть частично связаны с переходными конформационными перестройками пептидных групп белков в начале хранения (до 5 суток) и сохранения возникшей структуры до 7 сутки. Полоса при 1398 $см^{-1}$, соответствующая колебаниям ($-COO^-$) групп в составе аминокислот и органических кислот, не меняя частоту до 5 суток, сдвигается на 2 $см^{-1}$ в высокочастотную область 1400 $см^{-1}$ при хранении до 7 суток. Это указывает на стабильность карбоксилатных фрагментов в структуре аминокислот и органических кислот до 5 суток и дальнейшее слабое изменение окружения, возможно связанное с ионными сдвигами. Полоса поглощения 1454 $см^{-1}$ соответствует CH_3 и CH_2 группам в жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах. Полоса при 1454 $см^{-1}$, демонстрирует незначительное смещение на 2 $см^{-1}$ в низкочастотную область на 5 сутки и её стабилизации до 7 суток. Наблюдаемые изменения частоты рассматриваемой полосы указывают на усиление взаимодействия связей окружения липидной матрицы в начальном периоде и в дальнейшем стабилизации формированной структуры. Полоса 2872 $см^{-1}$ относится к симметричным валентным колебаниям ($C-H$) связей метиленовых $-CH_2$-групп

в алифатических цепях жирных кислот, фосфолипидов и боковых цепей бельков (аланин, лейцин). Неизменность частота в максимуме полосы 2872 $см^{-1}$ на всём протяжении наблюдения (3–7 сутки) показывает, что симметричные колебания метиленовых $(-CH_2)$-групп алифатических цепей липидов и жирных кислот, фосфолипидов и боковых цепей бельков (аланин, лейцин) не чувствительны к изменению микроструктуры окружения. Полоса поглощения на частоте 2927 $см^{-1}$ соответствует асимметричным валентным колебаниям $C-H$ связей метиленовых $(-CH_2)$ групп в алифатических цепях жирных кислот, фосфолипидов и боковых цепей бельков (аланин, лейцин). Высокочастотный сдвиг полосы 2927 $см^{-1}$, вначале до 5 суток выдержки, может указывать повышение жесткости (плотности) микросреды алифатических цепей или изменения её полярности из-за структурной реорганизации белков до 5 суток и дальнейшей стабилизации возникшей микросреды к 7 сутке. Полоса 2958 $см^{-1}$, соответствует асимметричным валентным колебаниям $(C-H)$ в метильных $(-CH_3)$ группах липидов, (боковых цепей аминокислот) белков , жирных кислот и мембранах. Неизменность частоты полосы 2958 $см^{-1}$ до 5 суток выдержки и её сдвиг в низкочастотную область (до 2956 $см^{-1}$) к 7 суткам, указывает на стабильность окружения метильных $(-CH_3)$ групп до 5 суток выдержки и возможные уменьшения взаимодействий метильных групп с молекулами в окружении из-за деструктивных или релаксационных процессов при увеличении выдержки до 7 суток. Полоса при 3068 $см^{-1}$, обусловлена валентными колебаниями $(C-H)$ ароматических колец $(=C-H$, арены), белков ,аминокислот с ароматическими боковыми цепями; фенилаланин, тирозин, триптофан. Обратимое (низкочастотный сдвиг с воостановлением) сдвиг частоты рассматриваемой полосы возможны при уменьшении плотности микроокружения и обратном её восстановлении из-за изменении: - конформации белков; - микроокружении ароматических остатков; - взаимодействия белков с другими молекулами.

На рисунках 3.6 и 3.7 представлены ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток. Результаты экспериментов по выявлению сдвигов ИК-полос поглощения сыворотки куриного яйца при выдержке на воздухе представлены в таблице 3.2.

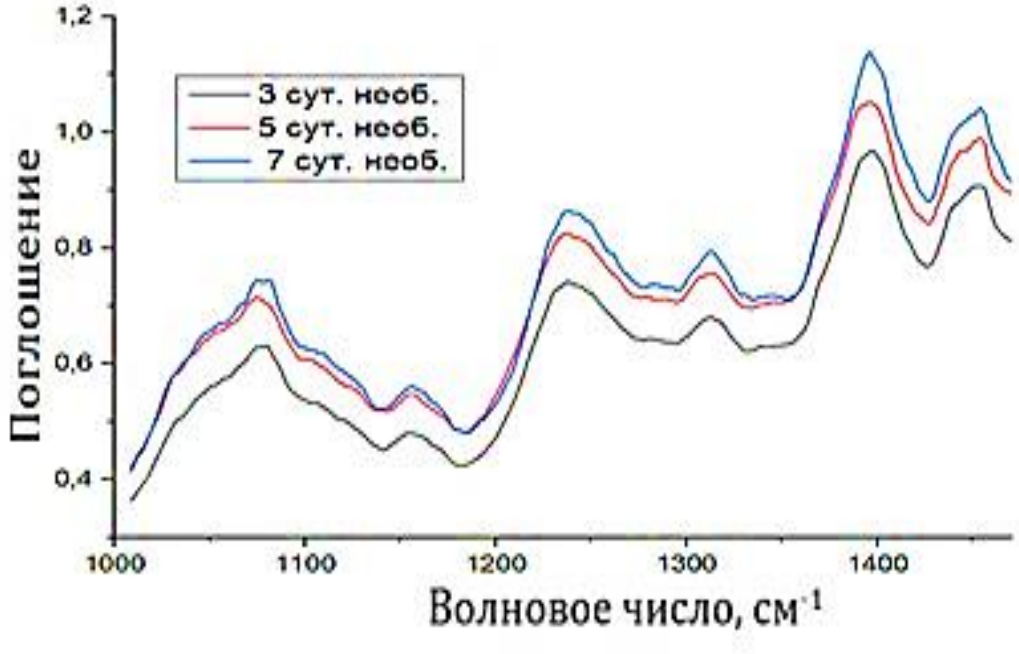

Рисунок 3.6. – ИК-спектр сыворотки куриного яйца после выдержки на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток в диапазоне 1000–1500 $см^{-1}$

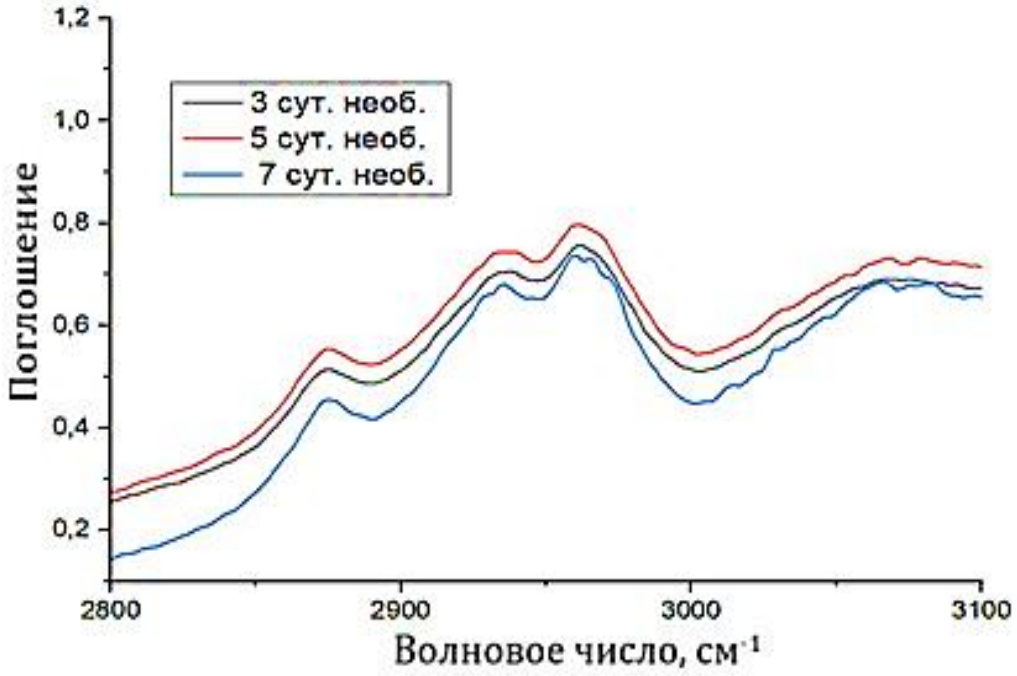

Рисунок 3.7. – ИК-спектр сыворотки куриного яйца после выдержки на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток в диапазоне 2800–3100 $см^{-1}$

Таблица 3.2. – Сравнение сдвигов частот ИК-спектра сыворотки куриного яйца при выдержке на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток

№	3 сут. необ.	5 сут. необ.	Разность 3 и 5 сутки	7 сут. необ.	Разность 3 и 7 сутки
	ν_3, $см^{-1}$	ν_5, $см^{-1}$	ν_3- ν_5	ν, $см^{-1}$	ν_3- ν_7
1	1080	1074	6	1082	-2
2	1238	1238	0	1238	0
3	1311	1311	0	1311	0
4	1338	1338	0	1342	-4
5	1396	1396	0	1396	0
6	1454	1454	0	1454	0
7	2873	2875	-2	2875	-2
8	2937	2939	-2	2935	2
9	2962	2960	2	2958	4
10	3070	3068	2	3066	4

Как видно из таблицы 3.2. и рисунках 3.6 и 3.7 полоса поглощения 1080 $см^{-1}$, зафиксированная на 3-и сутки, при 5-дневной выдержке сдвигается в область низких частот на 6 $см^{-1}$ (1074 $см^{-1}$), а затем к 7-м суткам сдвигаясь обратно проявляется при 1082 $см^{-1}$ (сдвиг на + 2 $см^{-1}$). Полоса поглощения 1238 $см^{-1}$ остаётся неизменной во всех трёх сроках выдержки (3, 5 и 7 суток). Полоса при 1311 $см^{-1}$ не претерпевает сдвигов на протяжении всех сроков хранения. Полоса 1338 $см^{-1}$ до 5-е суток выдержки не меняет частоту в максимуме. Однако при дальнейшем хранении сыворотки (до 7 суток) фиксируется смещение данной полосы в область высоких частот до 4 $см^{-1}$ и проявляется при 1342 $см^{-1}$. Полоса 1454 $см^{-1}$ остаётся без изменений при выдержке на 3, 5 и 7 суток. Полоса поглощения 2873 $см^{-1}$, наблюдаемая на 3-и сутки, сдвигается в область высоких частот на 2 $см^{-1}$ (2875 $см^{-1}$) до 5 суток и остается неизменным до 7 суток хранения (2875 $см^{-1}$). При выдержке в течение трёх суток в спектре имеется полоса поглощения при 2937 $см^{-1}$. К пятым суткам наблюдается её смещение в область высоких частот на 2 $см^{-1}$ с регистрацией

при 2939 $см^{-1}$. Однако при дальнейшем хранении сыворотки (в интервале от третьих до седьмых суток) фиксируется смещение данной полосы в низкочастотную область на 2 $см^{-1}$ - до значения 2935 $см^{-1}$. Полоса при 2962 $см^{-1}$, до 5 суток хранения сдвигается в низкочастотную область 2 $см^{-1}$ (2960 $см^{-1}$), а при 7 сутках наблюдается её дальнейший сдвиг в низкочастотную область до 2958 $см^{-1}$ (суммарный сдвиг 4 $см^{-1}$). Полоса поглощения 3070 $см^{-1}$, зафиксированная на 3-и сутки, сдвигается в область низких частот на 2 $см^{-1}$ (3068 $см^{-1}$) при 5-дневной выдержке и далее до 3066 $см^{-1}$ при 7-дневной выдержке (суммарный сдвиг 4 $см^{-1}$).

Взаимообратимый сдвиг полосы 1080 $см^{-1}$: - в низкочастотную область (до 1074 $см^{-1}$) на 5-е сутки; - возврат в высокочастотную область (до 1082 $см^{-1}$) к 7-м суткам, может указывать на временное усиление межмолекулярных взаимодействий вокруг фосфатных и карбоксильных групп**,** с последующим обратным восстановлением ростом плотности упаковки микросреды молекулярной матрицы. Неизменность полосы 1238 $см^{-1}$ в течении всего периода наблюдений отражает стабильность микроструктуры пептидных групп белков и ионных взаимодействий фосфорил груп ($-O-P=O$) в ДНК и РНК. Эти области проявили инертность к процессам деградации или структурной перестройки при коротком сроке (до 7 суток) хранения. Неизменность частоты полосы 1311 $см^{-1}$, свидетельствует об устойчивости амидной группы ($-CONH-$) в бельках или метильных ($-CH_3$) и метиленовых ($-CH_2-$) групп в белках, жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах, молекулярная упаковка микроструктуры вокруг этих групп неизменна до 7 суток хранения. Полоса 1342 $см^{-1}$ ассоциирована с деформацинными колебаниями (CH_3) групп в аминокислотах, белках или липидах, возможен слабый вклад групп ($C-N$) и ($N-H$) (Амид 3) в белках. Неизменность частоты полосы поглощения 1338 $см^{-1}$, до 5 суток хранения связано с устойчивостью окружения метильных (CH_3) групп в аминокислотах, белках или ($C-N$) и ($N-H$) групп в бельках, высокочастотный сдвиг к 7 сутки хранения свидетельствует об уплотнении

окружения этих групп в связи с изменением характера водородных и π-взаимодействий. Постоянство частоты полосы 1396 $см^{-1}$, указывает на устойчивость карбоксилатных фрагментов в составе органических кислот и аминокислот при воздействии факторов внешней среды до 7 суток хранения. Неизменность частоты полосы 1454 $см^{-1}$ подтверждает устойчивость метильных $(-CH_3)$ и метиленовых $(-CH_2-)$ групп в структуре жирных кислот ,фосфолипидов и триглицеридов до 7 суток хранения. подтверждает стабильность симметричных колебаний метиленовых $(-CH_2-)$ групп алифатических цепей жирных кислот, фосфолипидов и боковых цепей бельков (аланин, лейцин). Полоса 2873 $см^{-1}$ соответствует симметричным валентным колебаниям $C-H$ в метильных $(-CH_3)$ группах, преимущественно из белков и возможных остатков липидов. Высокочастотный сдвиг частоты полосы 2873 $см^{-1}$ к 5 сутке хранения, может свидетельствовать о перестройке межмолекулярных взаимодействий, приводящей к уплотнению окружения метильных $(-CH_3)$групп белков и липидов жирных кислот и фосфолипидов и стабилизации возникшей структуры до 7 суток хранения. Полоса на 2937 $см^{-1}$ соответствует асимметричному валентному колебанию метиленовых групп $(-CH_2-)$ в липидах и белках. Высокочастотный сдвиг полосы 2937 $см^{-1}$ до 5 суток хранения и её обратный сдвиг в низкочастотную область к 7 сутке хранения, указывает на структурные колебания в липидных и белковых компонентах в связи с ростом плотности упаковки в окружении метиленовых $(-CH_2-)$ групп в начале хранения до 5 суток и обратным частичным восстановлением исходной структуры к 7 сутки хранения. Полоса 2962 $см^{-1}$ относится преимущественно к асимметричным валентным колебаниям $C-H$ в метильных группах $(-CH_3)$ липидных компонентов и боковых цепей (аминокислот) белков**.** Наблюдаемый низкочастотный сдвиг полосы в области 3068 $см^{-1}$ свидетельствует об изменении состояния ароматических фрагментов биомолекул при хранении образца. Поскольку данная полоса соответствует колебаниям $=C-H$-связей ароматических структур, её смещение может быть

связано с перестройкой межмолекулярных взаимодействий и изменением конформации белковых молекул. Наиболее вероятно, что эти процессы затрагивают ароматические аминокислотные остатки, в частности фенилаланин, тирозин и триптофан.

3.3. Влияние тепловых нейтронов на спектральные параметры цельной крови

Целью данного раздела состоит в исследовании возможных изменений ИК-спектров цельной крови под воздействием тепловых нейтронов. Исследование проводилось для изучения изменений плазменных и клеточных компонентов крови под воздействием флюенсов тепловых нейтронов [6-А, 7-А, 9–11-А].

«Следует отметить, что интерпретация ИК-спектров цельной крови после воздействия тепловых нейтронов является методически сложной задачей. Наличие форменных элементов, мембранных структур и внутриклеточных компонентов приводит к перекрытию спектральных вкладов различных молекулярных групп. Кроме того, под воздействием нейтронного излучения возможно развитие радиационно-индуцированных процессов, включая изменение состояния мембран, белков и липидов клеток крови» [42, с. 94; 47, 116-117].

В связи с этим анализ спектральных изменений цельной крови носит в значительной степени обобщённый характер и используется в данной работе преимущественно для сопоставления с результатами, полученными для более однородных систем - сыворотки крови и модельного объекта.

Целью работы является изучение влияния малых потоков тепловых нейтронов на интенсивность различных полос поглощения ИК области спектра молекул цельной крови.

Таблица 3.3. – Спектроскопические характеристики ряда аналитических полос поглощения цельной крови

Форма колебания	Частота колебания
V(OH) связи., V(NH)	3 600 - 3007 $см^{-1}$
$\nu_{as}(CH_3)$	2960 см-1, 2936 $см^{-1}$

	Продолжение таблицы 3.3
$\nu_s(CH_2)$	2860см$^{-1}$, 2850см$^{-1}$, 2870 см$^{-1}$
ν (C=O)	1730 см$^{-1}$,1760 см$^{-1}$, 1770 см$^{-1}$
ν (C=C)	1645 см$^{-1}$, 1640 см$^{-1}$
ν (C-C), δs(CH)	1460 см$^{-1}$
δ_s (C=O) (δ (NH)	1420 см$^{-1}$, 1425 см$^{-1}$
δ_s (CH_3)	1385 см$^{-1}$
ν_{as}(COC)	1150 – 1050 см$^{-1}$
δ(CH)	900 – 650 см$^{-1}$

При исследовании ИК спектрограммы цельной крови были обнаружены многочисленные полосы поглощения в области $400 - 4000$ см$^{-1}$ (таблица 3.3.) На рисунках 3.8, 3.9 и 3.10 представлены сравнительное ИК-спектры поглощения необлученного и облученного образца. Из рисунков видно, что в диапазоне $3600 - 3007$ см$^{-1}$ наблюдается широкая полоса поглощения, которая связана с валентными колебаниями OH и NH. Интенсивные полосы поглощения 2960см$^{-1}$, 2936 см$^{-1}$, 2870 см$^{-1}$, 2860 см$^{-1}$ и 2850 см$^{-1}$ обусловлены валентными колебаниями $C - H$-связи метиленовых групп. Полоса на частоте 1652 см$^{-1}$, 1541 см$^{-1}$ является результатом валентных колебаний $- C = C, C = O$ связи, а полоса 1456см$^{-1}$, по-видимому, представляет деформационные колебаниям связи NH. Обнаружены полосы малой интенсивности на частотах 1240 см$^{-1}$, 1165 см$^{-1}$, 1085 см$^{-1}$ и 624 см$^{-1}$, которые принадлежат валентным колебания группы $C - O - C$ и деформационным колебаниям CN. Из этих результатов следует, что основные изменения в ИК-спектрах происходят для полос, связанных колебаниями $C = N$-групп и валентными колебаниями $C = O$ групп.

В таблице 3.4 приведены характеристики интенсивности необлученного и облученных образцов в определенное время малым потоком тепловых нейтронов. Из результатов, представленных в таблице 3.4, установлено, что при определенной дозе малого потока тепловых нейтронов происходит изменение характеристик интенсивности в максимумах областей.

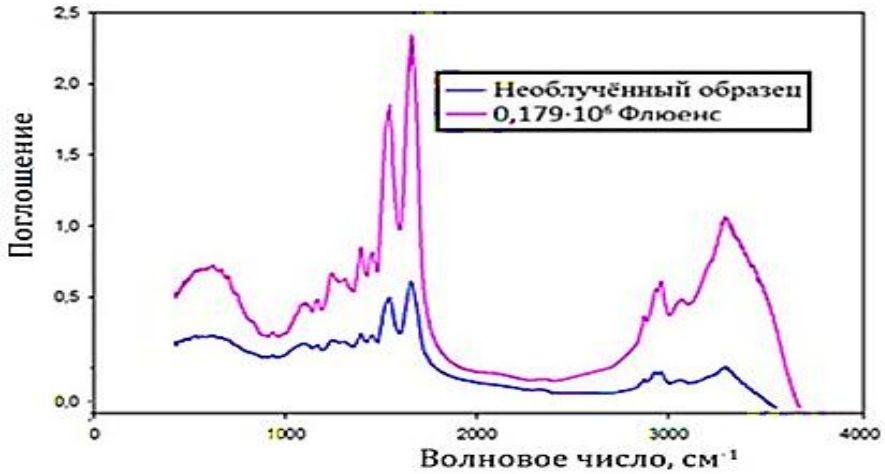

Рисунок 3.8. – Характеристики интенсивности ИК спектра необлученного и облученного образца в диапазоне $400 - 4000$ см$^{-1}$

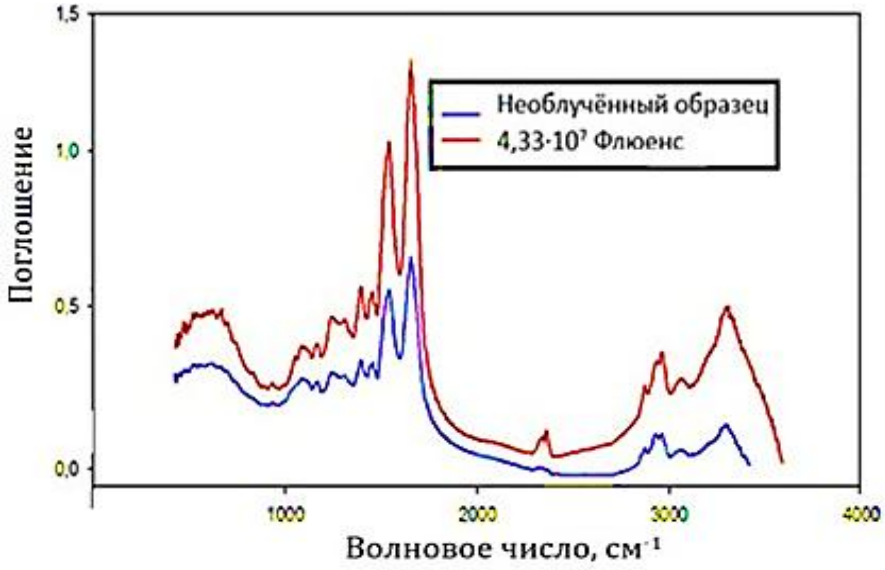

Рисунок 3.9. – Характеристики интенсивности ИК-спектра необлученного и облученного образца в диапазоне $400 - 4000$ см$^{-1}$

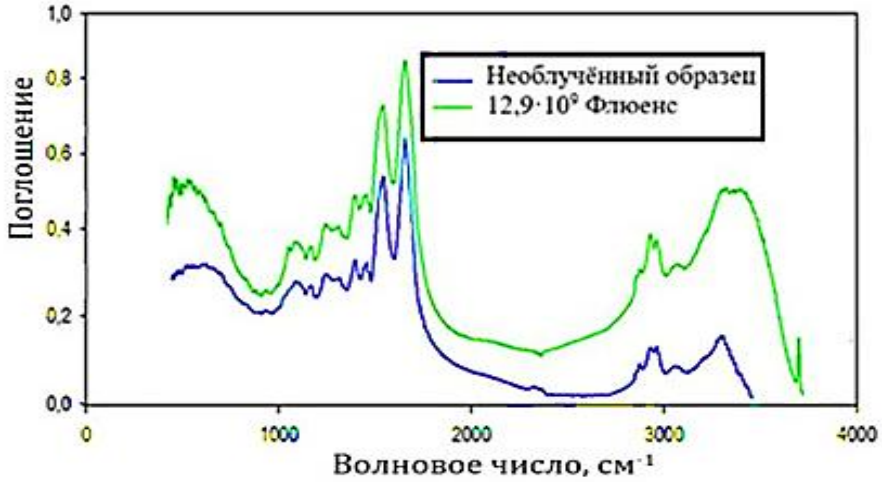

Рисунок. 3.10. – Характеристики интенсивности ИК-спектра необлученного и облученного образца в диапазоне $400 - 4000$ см$^{-1}$

Таблица 3.4. – Характеристики интенсивности необлученного и облученного образцов инфракрасного спектра цельной крови

№	Необ. образец		$\frac{I_1, I_2, ..., I_{12}}{I}$	0.179·10⁶ Флюенс		$\frac{I_1, I_2, ..., I_{12}}{I}$	4.33·10⁷ Флюенс		$\frac{I_1, I_2, ..., I_{12}}{I}$	12.9·10⁹ Флюенс		$\frac{I_1, I_2, ..., I_{12}}{I}$
	см⁻¹	I		см⁻¹	I		см⁻¹	I		см⁻¹	I	
1	1394	0.2428		1394	0.8504		1394	0.5117		1394	0.4419	
2	624	0.2302	0,94	621	0.7255	0,85	624	0.4247	0,82	617	0.4361	0,98
3	1083	0.1754	0,72	1085	0.4521	0,53	1089	0.2963	0,57	1087	0.2998	0,67
4	1165	0.1623	0,66	1166	0.4819	0,56	1166	0.3028	0,59	1165	0.2835	0,64
5	1240	0.1977	0,81	1242	0.6694	0,78	1244	0.4019	0,78	1238	0.3516	0,79
7	1456	0.2357	0,97	1454	0.8195	0,96	1456	0.4943	0,96	1452	0.4423	1
8	1541	0.4995	2,05	1543	1.8561	2,18	1539	1.0381	2,02	1539	0.7197	1,62
9	1652	0.6162	2,53	1656	2.3473	2,76	1652	1.3351	2,60	1652	0.8555	1,93
10	2960	0.0242	0,099	2960	0.6157	0,72	2960	0.2702	0,52	2958	0.3025	0,68
11	3068	-0.0861	0,35	3068	0.4862	0,57	3068	0.1743	0,34	3066	0.2304	0,52
12	3294	0.0080	0,032	3292	1.0717	1,25	3292	0.4358	0,85	3296	0.4572	1,03

Видимо, это связано с протеканием ядерной реакции радиационного захвата тепловых нейтронов. Превращение ядра N^{14} на ядро C^{14} приводит к ухудшению свойств обмена веществ в биологических средах. Вероятность протекания ядерной реакции $N^{14}\,(n,\gamma)N^{15}$ по сравнению с реакцией $N^{14}\,(n,p)C^{15}$, при малых потоках тепловых нейтронов, будет меньше. С увеличением потока тепловых нейтронов роль реакции $N^{14}\,(n,p)C^{15}$, возрастает. При увеличении величины потока получим обратный эффект.

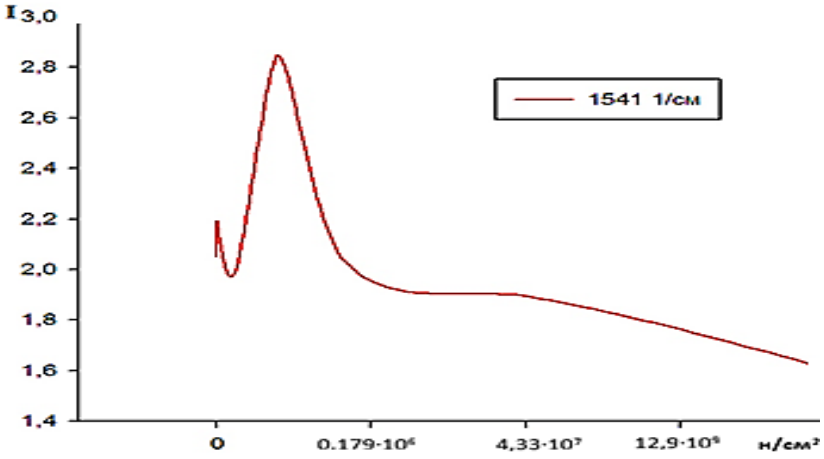

Рисунок 3.11. – Зависимость изменения характеристики интенсивности полосы поглощения 1541 см$^{-1}$ от малого потока тепловых нейтронов

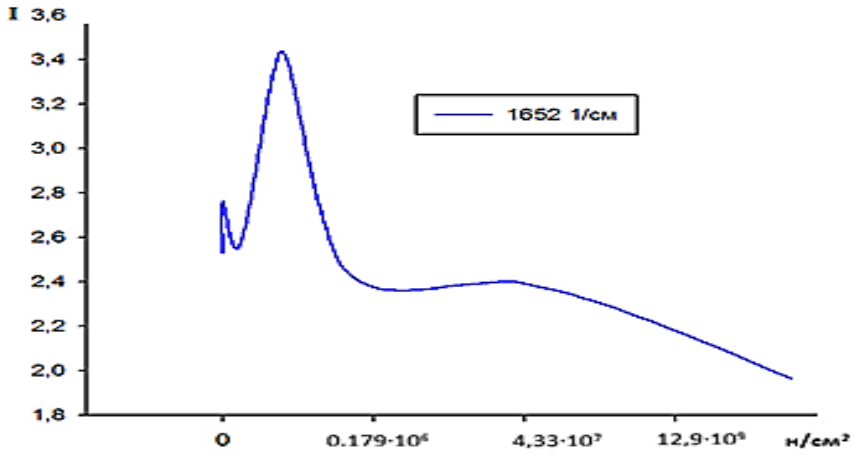

Рисунок 3.12. – Зависимость интенсивности полосы поглощения 1652 см$^{-1}$ от малого потока тепловых нейтронов

Махсудов Б.И. и соавторы отмечают что, при «сравнении спектральных характеристик облучённых и необлючённых образцов установлено, что изменение интенсивности полос поглощения зависит от величины малого потока тепловых нейтронов» [47, с. 104].

3.4. Влияние тепловых нейтронов на ИК-спектры сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца

В данном разделе рассмотрены изменения ИК-спектров сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца после воздействия тепловых нейтронов. Основное внимание уделено изменениям полос поглощения, связанных с белками и липидами [1–5-А, 10–17-А, 20-А]. Сыворотка крови человека была выбрана в качестве объекта исследования, поскольку её состав представлен преимущественно белками, липидами и низкомолекулярными метаболитами, чувствительными к структурным изменениям под воздействием внешних факторов. Отсутствие форменных элементов в сыворотки крови облегчает интерпретацию полученных спектральных изменений и позволяет связывать их прежде всего с изменениями основных биокомпонентов. Сыворотку куриного яйца в работе использовали как модельную белковую систему. Её сравнение с сывороткой крови человека позволяло оценить изменения, связанные с белковыми компонентами, и определить общие особенности их изменений под действием тепловых нейтронов. Такое сопоставление также использовали для

более детального рассмотрения характера радиационно-индуцированных изменений в исследуемых биологических образцах.

Для анализа влияния потока тепловых нейтронов на структуру белковых и липидных компонентов были исследованы спектры образцов после облучения флюенсами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ $\cdot$н/см^2, которые представлены на рисунках 3.13 и 3.14, а значения сдвигов максимумов полос ИК-поглощения сыворотки крови человека приведены в таблице 3.5.

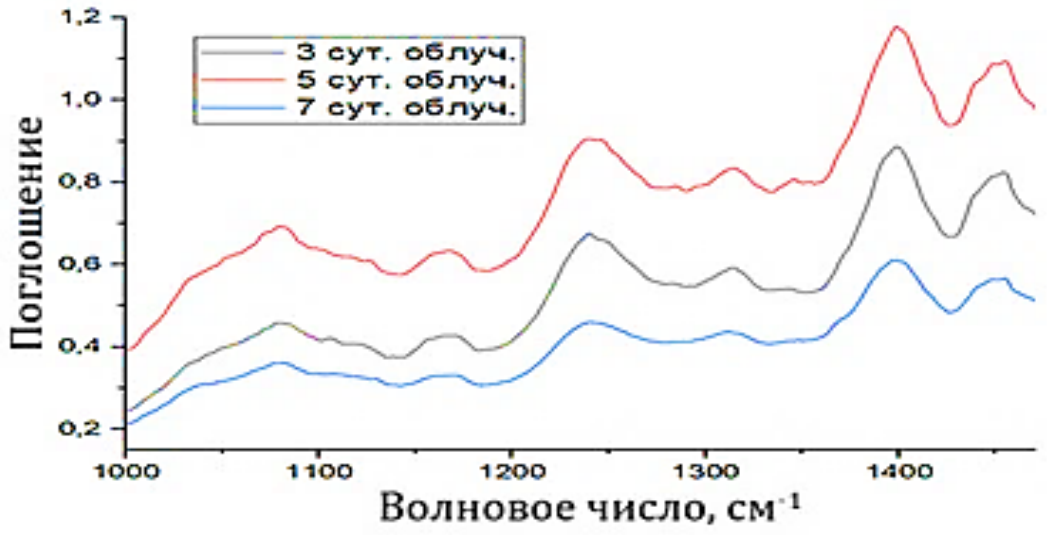

Рисунок 3.13. – ИК-спектра сыворотки крови человека после воздействия потока тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000-1500 см$^{-1}$

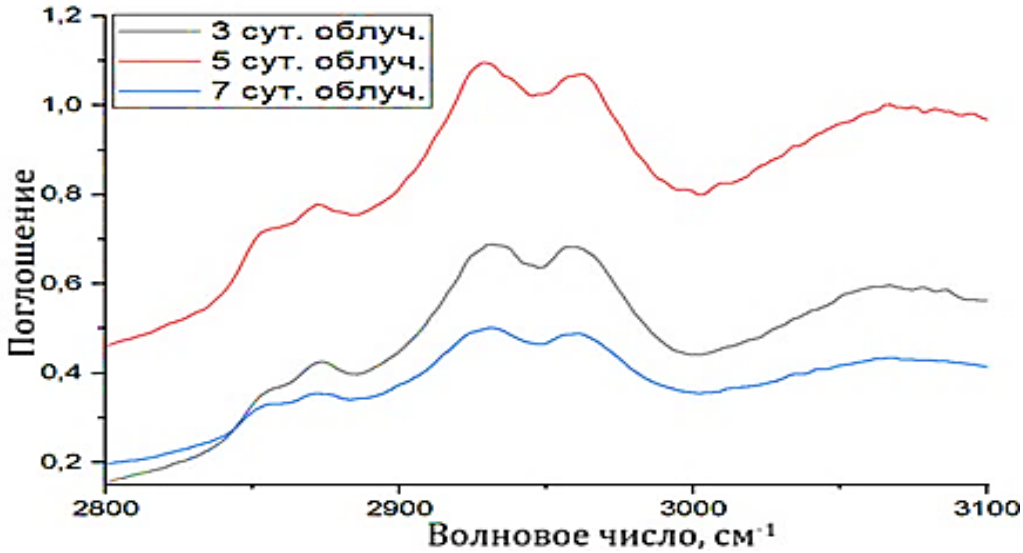

Рисунок 3.14. – ИК-спектра сыворотки крови человека после воздействия потока тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800-3100 см$^{-1}$

Таблица 3.5. – Сравнение сдвига частот ИК-спектра сыворотки крови человека после воздействия потока тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2

№	$1,3 \cdot 10^8$ н/см^2	$2,16 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность 3 и 5 сутки	$3 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность 3 и 7 сутки
	ν_3, см$^{-1}$	ν_5, см$^{-1}$	ν_3- ν_5	ν_7, см$^{-1}$	ν_3- ν_7
1	1078	1080	-2	1082	-4
2	1240	1238	2	1240	0
3	1313	1315	-2	1311	2
4	1340	1346	-6	1342	-2
5	1398	1398	0	1398	0
6	1454	1454	0	1454	0
7	2873	2873	0	2873	0
8	2931	2929	-2	2931	0
9	2956	2962	-6	2960	-4
10	3066	3066	0	3066	0

Как видно из таблицы 3.5, после облучении потоком тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2, наблюдается полоса поглощения 1078 см$^{-1}$, а при облучения потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 данная полоса сдвигается в область высоких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется при 1080 см$^{-1}$. При дальнейшем воздействии потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 рассматриваемая полоса поглощения сдвигается в сторону высоких частот до 4 см$^{-1}$ (по сравнению с $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2) и проявляется 1082 см$^{-1}$. Полоса поглощения 1240 см$^{-1}$ наблюдается после облучении потоком тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2. Этот полоса при облучение потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигается в область низких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется 1238 см$^{-1}$. При дальнейшем воздействии потока тепловых нейронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 частота рассматриваемой полосы поглощения возвращается в исходное состояние. При облучении потоком

тепловых нейтронов 1,3•10^8 н/см^2 в спектре имеется полоса поглощения при 1313 см$^{-1}$. При облучении потоком тепловых нейтронов 2,16•10^8 н/см^2 наблюдается её смещение в область высоких частот на 2 см$^{-1}$ с регистрацией при 1315 см$^{-1}$. Однако при дальнейшем облучении потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 (в интервале от $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 до $3 \cdot 10^8$ н/см^2) фиксируется обратное смещение данной полосы в низкочастотную область на 2 см$^{-1}$ до значения 1311 см$^{-1}$. Частота полосы поглощения 1340 см$^{-1}$ наблюдаемая после облучении потоком тепловых нейтронов 1,3•10^8 н/см^2, под влиянием потока тепловых нейтронов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигается в область высоких частот на 6 см$^{-1}$ и проявляется при 1346 см$^{-1}$. При дальнейшем воздействии потока тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса сдвигается обратно в область низких высоких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется при 1342 см$^{-1}$. Частота полосы 1398 см$^{-1}$ неизменна при воздействии потоками тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2. Частота полосы поглощения 1454 см$^{-1}$ также неизменна при воздействии изложенных потоков тепловых нейтронов. Частота полосы поглощения при 2873 см$^{-1}$ сохраняется неизменным в спектрах сыворотки крови при воздействии потока тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2. Частота полосы поглощения 2931 см$^{-1}$ наблюдаемая после облучении потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, при облучение потоком тепловых нейтронов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигается в область низких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется 2929 см$^{-1}$. При дальнейшее влиянии потока тепловых нейронов до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 частота полосы поглощения возвращается в исходное состояние 2931 см$^{-1}$. Частота полосы поглощения 2956 см$^{-1}$ наблюдаемая после облучении потоком тепловых нейтронов 1,3•10^8 н/см^2, под влиянием потока тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигается в область высоких частот на 6 см$^{-1}$ и проявляется при 2962 см$^{-1}$. При дальнейшеем воздействии потока тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса сдвигается обратно в область низких частот до 4 см$^{-1}$ и проявляется 2960 см$^{-1}$. Полоса поглощения при 3066 см$^{-1}$ сохраняет

частоту неизменным в спектрах сыворотки при воздействии потока тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2.

Последовательный высокочастотный сдвиг полосы 1078 см$^{-1}$ с ростом потока тепловых нейтронов, может быть вызван: - ослаблением ионных взаимодействий в белково-фосфатных комплексах; - ослаблением водородных связей; такие изменения свидетельствуют об изменении микросреды функциональных групп из-за активации процессов окисления или переупаковки функциональных групп потоком тепловых нейтронов. Обратимый низкочастотный сдвиг полосы 1240 см$^{-1}$ при воздействии потока тепловых нейтронов в начале свидетельствует о временном усилении взаимодействий в амидной группе белков и усилении взаимодействий с ионами фосфорил групп в ДНК и РНК, с дальнейшим восстановлении исходной структурной с ростом величины потока тепловых нейтронов. Такая динамика характерна для быстропротекающих адаптивных изменений в биомолекулах. Полоса поглощения на частоте 1315 см$^{-1}$ (Амид 3) соответствует к колебаниям связей $(C-N)$ и $(N-H)$ в пептидах и аминогруппах ДНК и РНК или колебаниям метильных $(-CH_3)$ и метиленовых $(-CH_2-)$ групп в белках, жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах. Высокочастотный сдвиг полосы 1313 см$^{-1}$ с дальнейшим сдвигом в область низких частот указывает на нестабильность микроструктуры: -в окружении пептидных и аминогрупп; - метильных и метиленовых групп белков и липидных фракций жирных кислот, фосфолипидов, триглицеридов. Первичное уплотнение или структурная перестройка при средней дозе облучения может сменяться расслаблением плотности упаковки изложенных групп с повышением величины потока. Сдвиг частоты полосы 1340 см$^{-1}$ в высокочастотную область при средней дозе, с последующим обратным частичным сдвигом при высокой дозе, указывают на уменьшения плотности в микроокружении метильных групп в аминокислотах, белках или липидах из-за уменьшения межмолекулярных связей или переходных конформационных перестроек белков в начале ($2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2) и частичным восстановлением исходной структуры в последствии ($3 \cdot 10^8$ н/см^2). Неизменность частоты полоса

1398 см$^{-1}$ в процессе воздействия потока тепловых нейтронов до 3 •10^8 н/см^2 свидетельствует о высокой стабильности COO^-- фрагментов в аминокислотах и органических кислотах. Вероятно, карбоксилатные группы не вовлекаются активно в радиационно-индуцированные процессы или защищены белковой матрицей. Неизменность частоты полосы при 1454 см$^{-1}$, отражает относительную устойчивость метильных ($-CH_3$) и метиленовых ($-CH_2-$) групп в жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах к воздействию потока тепловых нейтронов. Неизменность частоты в максимуме полосы 2872 см$^{-1}$ при воздействии потока тепловых нейтронов, показывает что симметричные колебания метиленовых ($-CH_2-$) групп алифатических цепей липидов жирных кислот, фосфолипидов и боковых цепей белков (аланин, лейцин) не чувствительны к изменению микроструктуры окружения под воздействием потока тепловых нейтронов. Низкочастотный сдвиг полосы 2931 см$^{-1}$ с последующим возвращением в исходное положение при росте потока тепловых нейтронов могут свидетельствовать о обратимых изменениях в плотности упаковки в окружении метиленовых ($-CH_2-$) групп длинных углеводородных цепях липидов, жирных кислот и фосфолипидов. Высокочстотный сдвиг частоты полосы при 2956 см$^{-1}$ с последующим обратным низкочастотным сдвигом при повышении потока тепловых нейтронов свидетельствует об изменении плотности структуры в окружении метильных ($-CH_3$) групп липидов, (боковых цепей аминокислот) белков, жирных кислот и мембран: - уменьшении плотности упаковок при средних потоках; - обратное частичное повышение плотности упаковки при больших потоках. Наблюдаемая неизменность частоты полосы 3066 см$^{-1}$, свидетельствует, о сохранении основной структуры белков в составе сыворотки, несмотря на точечные изменения в боковых цепях аминокислот.

Результаты экспериментов по выявлению сдвигов максимумов полос ИК-поглощения сыворотки куриного яйца при воздействии тепловых нейтронов с флюенсами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 представлены на рисунках 3.15 и 3.16, а значения соответствующих сдвигов приведены в таблице 3.6.

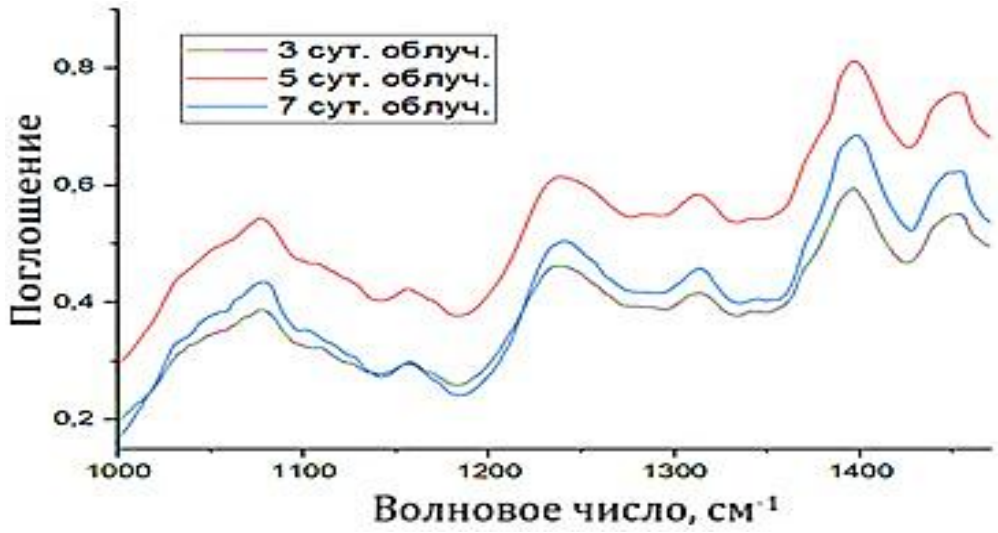

Рисунок 3.15. – ИК-спектра сыворотки куриного яйца под воздействием потока тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

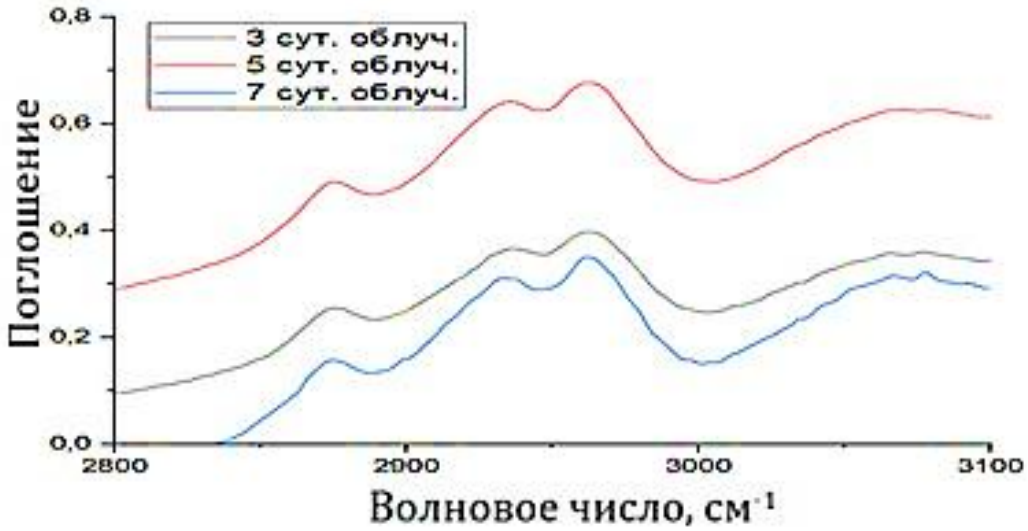

Рисунок 3.16. – ИК-спектра сыворотки куриного яйца под воздействием потока тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

Таблица 3.6. – Сравнение сдвига частот ИК-спектра сыворотки куриного яйца под воздействием тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2

№	$1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2	$2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность 3 и 5	$3 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность 3 и 7 сутки
	ν_3, см$^{-1}$	ν_5, см$^{-1}$	ν_3- ν_5	ν_7, см$^{-1}$	ν_3- ν_7
1	1078	1076	2	1080	-2
2	1238	1238	0	1240	-2

Продолжение таблицы 3.6					
3	1313	1311	2	1311	0
4	1340	1342	-2	1344	-4
5	1396	1396	0	1398	-2
6	1454	1452	2	1454	0
7	2875	2875	0	2873	-2
8	2935	2935	0	2937	-2
9	2962	2962	0	2962	0
10	3066	3070	-4	3066	0

Сравним ИК спектры сыворотки куриного яйца под влиянием тепловых нейтронов дозами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 (рисунки 3.15, 3.16)

Полоса поглощения 1078 см$^{-1}$ наблюдается после облучения потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, при воздействии дозы $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 частота данной полосы сдвигается в область низких частот на 2 см$^{-1}$ и проявляется при 1076 см$^{-1}$. Однако при дальнейшем увеличении дозы до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса возвращается и фиксируется при 1080 см$^{-1}$. Частота полосы поглощения 1238 см$^{-1}$ остается неизменным, как после облучения дозой $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, так и при дозе $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 н/см^2, без изменения. Однако при дозе $3 \cdot 10^8$ н/см^2 происходит сдвиг в область высоких частот на 2 см$^{-1}$, и полоса регистрируется при 1240 см$^{-1}$. При облучении дозой $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 в спектре присутствует полоса поглощения при 1313 см$^{-1}$. При дальнейшем облучении дозой $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 наблюдается её смещение в область низких частот на 2 см$^{-1}$ и она проявляется при 1311 см$^{-1}$, её частота сохраняется и при дозе $3 \cdot 10^8$ н/см^2. Полоса поглощения 1340^{-1} наблюдается после облучении потоком тепловых нейтронов 1,3•10^8 н/см^2, а при облучения потоком тепловых нейтронов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 данная полоса сдвигается в область область высоких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется при 1342 см$^{-1}$. При дальнейшем воздействии потоком тепловых нейронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения сдвигается в высоких частот до 4 см$^{-1}$ (по сравнению с $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2) и проявляется 1344 см$^{-1}$. Полоса поглощения

1396 см$^{-1}$ сохраняется без изменений при облучении дозами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 и $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2. Однако при воздействии дозой $3 \cdot 10^8$ н/см^2 регистрируется её смещение на 2 см$^{-1}$ в сторону высоких частот, при этом она проявляется при 1398 см$^{-1}$. Частота полосы поглощения 1454 см$^{-1}$ регистрируется после облучения дозами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2 без изменений. Однако при дозе 2,16·10^8 н/см^2 наблюдается сдвиг в низкочастотную область на 2 см$^{-1}$, и полоса фиксируется при 1452 см$^{-1}$. Полоса поглощения при 2875 см$^{-1}$ регистрируется в спектрах после облучения дозами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 и $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2. При дальнейшем облучении дозой $3 \cdot 10^8$ н/см^2 наблюдается сдвиг на 2 см$^{-1}$ в низкочастотную область и проявление полосы при 2873 см$^{-1}$.. Частота полосы поглощения 2935 см$^{-1}$ наблюдается после облучении потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2. Этот полоса при облучение потоком тепловых нейтронов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 не изменяется. При дальнейшем воздействии потока тепловых нейронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения сдвигается в область высоких частот до 2 см$^{-1}$ и проявляется 2937 см$^{-1}$. Полоса поглощения 2962 см$^{-1}$ фиксирует стабильную частоту после всех трёх уровней облучения $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2. Частота полосы поглощения при 3066 см$^{-1}$ сдвигается в область высоких частот при $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2, далее восстановляет исходную частоту при $3 \cdot 10^8$ н/см^2.

Взаимообратимый сдвиг частоты полосы 1078 см$^{-1}$: – низкочастотный в начале облучения; - обратный высокочастотный в дальнейшем, указывает на временное изменение структуры в окружении фосфорорганических и гидроксильных групп в связи усилением ионных взаимодействий и водородных связей в начальном этапе, с последующим разрыхлением окружения фосфорорганических соединений из-за ослабления ионных взаимодействий и водородных связей при повышении потока облучения. Неизменность частоты полосы 1238 см$^{-1}$, до воздействия потока $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2, свидетельствует об устойчивости микроструктуры в окружении амидных групп белков и ионных взаимодействий фосфорилгрупп в ДНК и РНК. Повышение частоты полосы

поглощения при облучении потоком до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 может быть связано с ослаблением взаимодействия: - амидных групп вблизи белковых фрагментов; - ионных взаимодействий фосфорил групп в ДНК и РНК. Сдвиг частоты полосы 1313см$^{-1}$ в область низких частот (1311 см$^{-1}$), до воздействия потока $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и сохранения этого значение при дальнейшем облучении до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 свидетельствует о снижении плотности упаковки в микрокруокружении: - пептидных связей и амидных групп ДНК и РНК; - метильных и метиленовых групп бельков или липидной матрицы; в начале и дальнейшей восстановлении исходной конфигурации с ростом величины потока. Поэтапный сдвиг в высокочастотную область полосы 1340 см$^{-1}$, с ростом воздействия потока нейтронов могут отражать ослабление межмолекулярных взаимодействий в окружении: - метильных (CH_3) групп в аминокислотах, белках или липидах; - групп ($C-N$) и (N-H) (Амид 3) в белках или начало конформационных перестроек аминокислот или белков. Стабильность частоты полосы 1396 $см^{-1}$, при первых двух дозах и её сдвиг в высокочастотную область при $3 \cdot 10^8$ н/см^2. Указывает на высокую устойчивость карбоксилатных структур к воздействию тепловых нейтронов в начальных потоках. Дальнейшее повышение частоты с ростом потока тепловых нейтронов может быть связано с модуляцией электронной плотности в карбоксилатных фрагментах. Уменьшение частоты полоса 1454 $см^{-1}$ при воздействии промежуточного потока $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и её восстановление при при воздействии потока $3 \cdot 10^8$ н/см^2, может быть связана с обратимой локальной перестройкой окружения липидных фракций. Временное снижение частоты в промежуточной дозе указывает на ослабление межмолекулярных взаимодействий в окружении метильных и метиленовых групп липидных фракций и восстановление исходной микроструктуры при росте величины потока. Неизменность частоты рассматриваемой полосы 2875 см$^{-1}$, до воздействия потока $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 указывает на стабильность структуры в микроокружении метильных ($-CH_3$) групп белков и липидов. Обратный сдвиг в низкочастотную область при потоке $3 \cdot 10^8$ н/см^2, свидетельствует о снижении

плотности в микроокружении метильных ($-CH_3$) групп белков и липидов. Неизменность частоты полосы 2935 см$^{-1}$ при воздействия потока $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 указывает на стабильность метиленовых ($-CH_2-$) групп в липидах и белках. Дальнейший сдвиг в низкочастотную область при потоке $3 \cdot 10^8$ н/см^2, может свидетельствовать о возможной переориентацией молекул окружении метиленовых групп в липидах и белках.

Положение полосы 2962 см$^{-1}$ практически не изменялось, что свидетельствует об устойчивости метильных групп белков и липидов к воздействию тепловых нейтронов. В области 3066 см$^{-1}$ при флюенсов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 наблюдался незначительный сдвиг полосы, указывающий на изменение межмолекулярных взаимодействий. При увеличении флюенсов до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 положение полосы практически возвращалось к исходному значению.

Заключение к главе 3

1. В ИК-спектрах крови, сыворотки крови и сыворотки куриного яйца идентифицированы полосы поглощения, соответствующие белкам, липидам и другим органическим компонентам. Наиболее выраженные изменения спектральных характеристик в процессе хранения наблюдались для сыворотки крови.
2. Хранение сыворотки крови на воздухе сопровождалось смещением отдельных полос поглощения, что указывает на изменение микроокружения функциональных групп и перестройку межмолекулярных взаимодействий. Наиболее заметные изменения были зафиксированы в течение первых пяти суток хранения.
3. В ИК-спектрах сыворотки куриного яйца существенных изменений положения основных полос поглощения не обнаружено. Это свидетельствует о более высокой стабильности белковых компонентов данной системы в исследованных условиях хранения. Изменения отдельных полос указывают на частичную перестройку структуры белков и липидов.

4. Воздействие малых потоков тепловых нейтронов на цельную кровь сопровождалось изменением интенсивности полос поглощения. Наиболее выраженные изменения наблюдались при определённых значениях потока нейтронов.
5. В сыворотке крови под действием тепловых нейтронов отмечались смещения отдельных полос ИК-спектра, связанные с изменением состояния белково-липидного комплекса и системы водородных связей. Часть изменений носила обратимый характер.
6. В сыворотке куриного яйца после нейтронного воздействия также наблюдались изменения положения отдельных полос поглощения. Полученные результаты показывают различную чувствительность функциональных групп к действию тепловых нейтронов.

ГЛАВА 4. Сравнительный анализ влияние внешних факторов на спектральный и биохимический параметры сложных биологических объектов

4.1. Сравнительный анализ ИК-спектров облучённой и выдержанной сыворотки крови

В данном разделе проводится сравнительный анализ ИК-спектров сыворотки крови облучённой, тепловыми нейтронами, и образцов, выдержанных на воздухе в течение аналогичного времени [1–5-А, 13–14-А, 20-А]. Такое сопоставление необходимо, поскольку в процессе облучения образцы одновременно подвергаются воздействию внешней среды, включая дегидратацию, окислительные процессы и изменения водородных связей.

Что бы отделить изменения, связанные с действием флюенсов нейтронов от изменения которые могли возникать во время хранения образцов, проводили сравнения спектров облучённых и контрольных (необлучённых) образцов. Для этого частоты полос поглощения после облучения сравнивали с соответствующими полосами контрольных образцов, которые находились на воздухе такое же время. Такой способ сравнения позволял учитывать изменения, связанные с хранением и отдельно рассматривать влияние тепловых нейтронов на спектральные характеристики образцов.

При анализе спектров в первую очередь рассматривали полосы, относящиеся к амидным группам белков, карбонильным и карбоксилатные группам, фосфатным группам, а также к алифатическим и ароматическим $C-H$-связям. По изменению положения и характера этих полос оценивали, какие функциональные группы наиболее чувствительны к воздействию тепловых нейтронов. Полученные данные использовали также для анализа возможных структурных изменений белковых и липидных компонентов сыворотки крови.

На рисунках 4.1–4.6 представлены сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, подвергнутой воздействию двух внешних факторов: хранения на воздухе в течение 3, 5 и 10 суток и облучения потоками тепловых нейтронов с флюенсами $1{,}3\cdot10^8$ н/см^2, $2{,}16\cdot10^8$ н/см^2, $3\cdot10^8$ н/см^2.

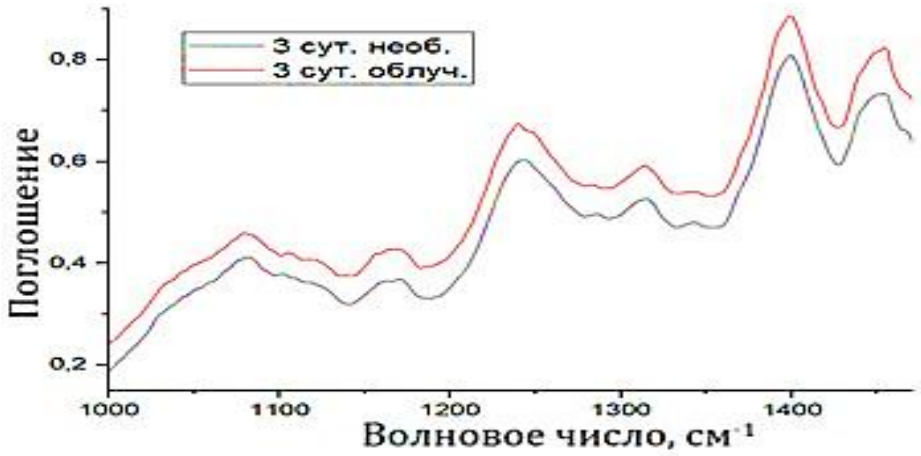

Рисунок 4.1. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 3 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

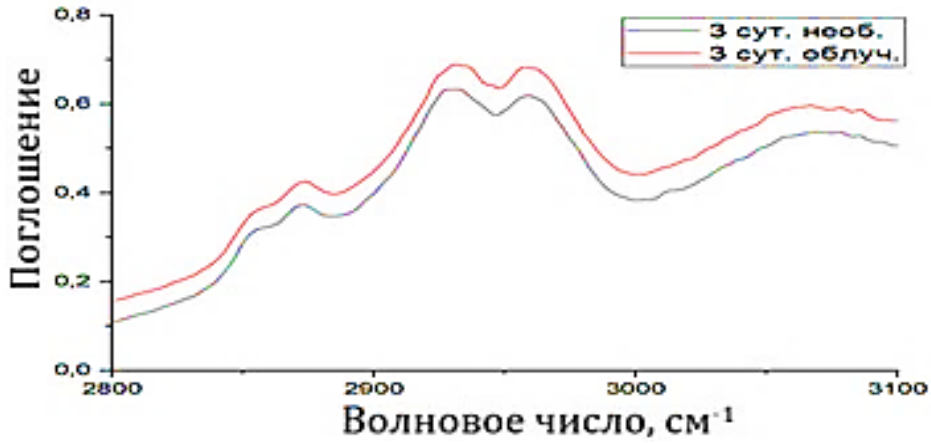

Рисунок 4.2. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 3 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $1,3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

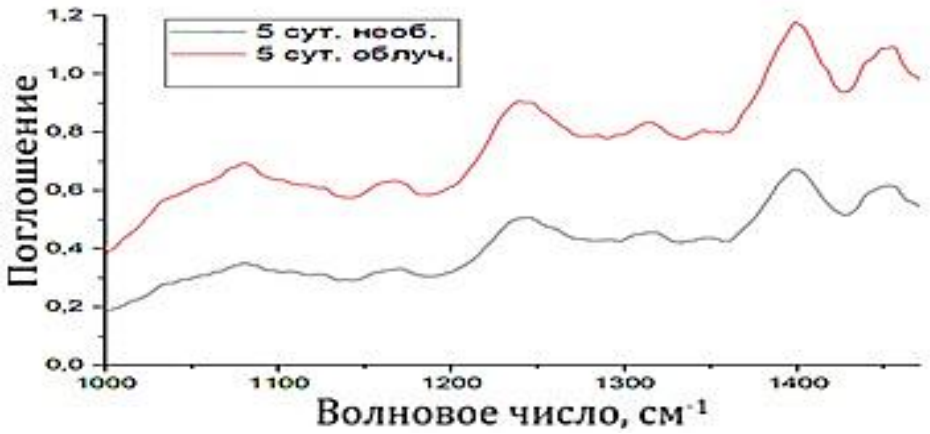

Рисунок 4.3. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 5 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

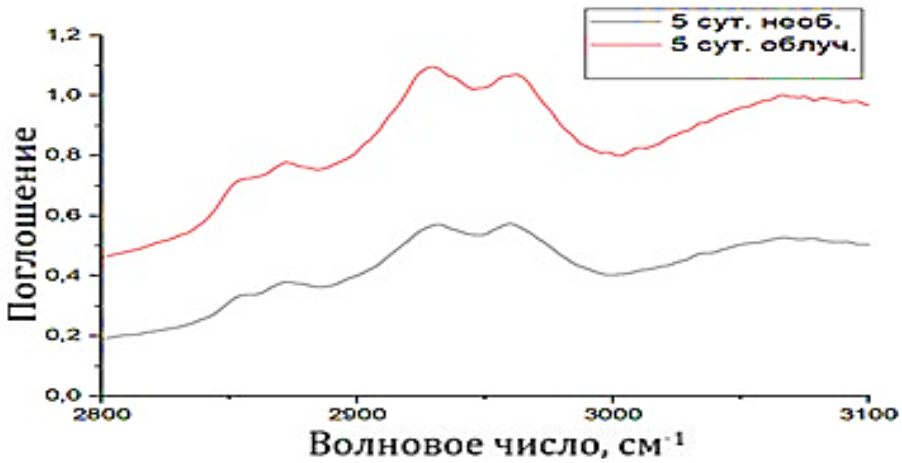

Рисунок 4.4. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 5 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

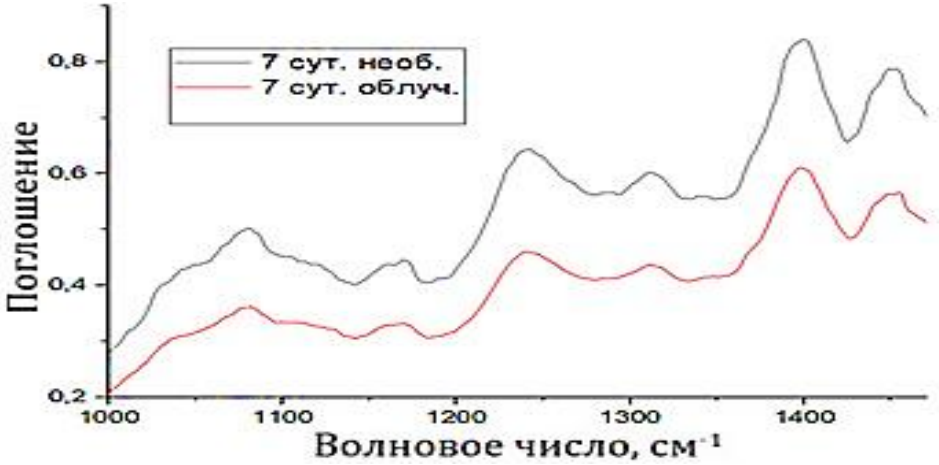

Рисунок 4.5. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 7 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

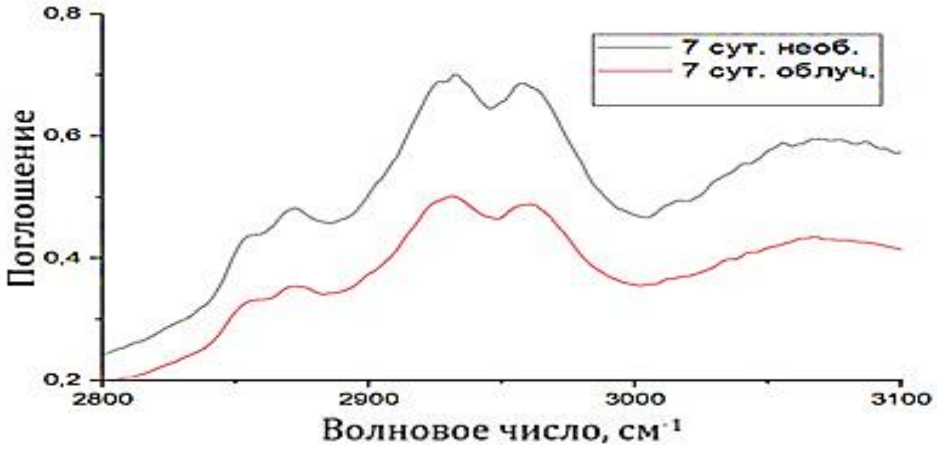

Рисунок 4.6. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 7 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

В представленных спектрах проведено сопоставление положения максимумов полос поглощения, соответствующих основным функциональным группам белковых, липидных и низкомолекулярных компонентов сыворотки крови. Особое внимание уделено анализу сдвигов частот полос, отражающих изменение микроструктурного состояния молекулярной матрицы под действием хранения и нейтронного облучения.

Сравнительный анализ спектров, представленных на рисунках, позволяет выявить сходства и различия в характере перестройки белково-липидной структуры сыворотки крови при воздействии атмосферных факторов и тепловых нейтронов, а также определить функциональные группы, наиболее чувствительные к воздействию ядерного излучения.

Количественные значения смещений максимумов полос поглощения при выдержке и при облучении приведены в таблице 4.1. В таблице систематизированы данные, позволяющие оценить как направленность (высокочастотные или низкочастотные сдвиги), так и величину изменений спектральных параметров.

Таблица 4.1. – Результаты сравнительного анализа частот максимумов ИК-полос поглощения сыворотки крови человека, выдержанной на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток и облучённой малыми потоками тепловых нейтронов в диапазоне $(1,3-3)\cdot 10^8$ н/см^2

№	3 сут. необ.	$1{,}3\cdot 10^8$ н/см^2	Разность	5 сут. необ.	$2{,}16\cdot 10^8$ н/см^2	Разность	7 сут. необ.	$3\cdot 10^8$ н/см^2	Разность
	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2
1	1082	1078	4	1080	1080	0	1080	1082	-2
2	1242	1240	2	1244	1238	6	1242	1240	2
3	1315	1313	2	1317	1315	2	1311	1311	0
4	1342	1340	2	1346	1346	0	1342	1342	0
5	1398	1398	0	1398	1398	0	1400	1398	2
6	1454	1454	0	1452	1454	-2	1452	1454	-2

									Продолжение таблицы 4.1
7	2872	2873	-1	2872	2873	-1	2872	2873	-1
8	2927	2931	-4	2931	2929	2	2931	2931	0
9	2958	2956	2	2858	2962	-4	2956	2960	-4
10	3068	3066	2	3066	3066	0	3068	3066	2

Как видно из таблицы 4.1. при выдержке сыворотки в течение 3 суток наблюдается полоса поглощения с частотой 1082 $см^{-1}$. После облучения образца тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 (в течение 3 суток), данная полоса смещается в область более низких частот на 4 $см^{-1}$ и проявляется при 1078 $см^{-1}$. Облучение потоком нейтронов $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 не вызывает дальнейшего изменения частоты полосы — она остаётся на уровне 1080 $см^{-1}$. Последующее облучение потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 приводит к её смещению в область более высоких частот, до 1082 $см^{-1}$. Полоса поглощения на частоте 1082 $см^{-1}$ относится к симметричными валентными колебаниями фосфатной группы $(-C-P=O)$ или фосфатной кислоты $(-PO_3{}^{2-})$, а также к симметричными деформационным колебаниям связей $C-O$ в карбоксильной группе $(-C-OH)$ (здесь и далее использовали таблицу 1). При выдержке образца в течение трёх суток формируется полоса поглощения с частотой 1242 $см^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 приводит к её смещению в область более низких частот на 2 $см^{-1}$, при этом полоса проявляется при 1240 $см^{-1}$. После облучения потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 данная полоса смещается в область более низких частот на 6 см⁻¹ и фиксируется при 1238 $см^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигает полосу в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и она наблюдается при 1240 $см^{-1}$. Данная полоса относится к валентным колебаниям $(-C-OH)$ гидроксильных групп, валентным колебаниям ацетатных групп $(-C-O-)$ и асимметричным валентным колебаниям фосфатной группы $(O=P-O)$. После облучении тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения с частотой 1315 $см^{-1}$ смещается в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и наблюдается при 1313 $см^{-1}$.

Облучения потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигает полосу в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и она фиксируется при 1315 $см^{-1}$, после облучения потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 рассматриваемая полоса не изменяет своего положения. Полоса поглощения на частоте 1315 $см^{-1}$ относится к деформационным колебаниям аммонийной группы ($-NH_3^+$). Это колебания, связанные с изменением углов между атомами водорода и азота в ионной форме аммонийной группы. При выдержке в течение трёх суток и облучении тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ н/см^2 полоса поглощения с частотой 1342 $см^{-1}$ смещается в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и наблюдается при 1340 $см^{-1}$. Облучение потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 не меняет её положение, она не смещается, которая при облучении потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 также не изменяет своей частоты. Полоса поглощения на частоте 1342 $см^{-1}$ соответствует валентным колебаниям $C-N$ связей ароматических аминов или других соединений содержащих $C-N$ группы, связанных с ароматическими кольцами. При выдержке в течение трёх суток и облучении тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ н/см^2 частота полосы поглощения 1398 см$^{-1}$ не изменяется. При последующем облучении потоком $2{,}16 \times 10^8$ н/см^2 частота полосы 1398 $см^{-1}$ также остаётся стабильной и не смещается, которая после облучения потоком 3×10^8 н/см^2 смещается в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и фиксируется при 1398 $см^{-1}$. Полоса поглощения на частоте 1398 см$^{-1}$ относится к валентным колебаниям карбоксилатной группы ($-COO^-$) в аминокислотах или их производных, например, в ионизированных карбоксильных группах, характерных для аминокислот в физиологических условиях. При облучении тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ н/см^2 частота полосы поглощения 1454 $см^{-1}$ остаётся неизменной. При последующем облучении потоком $2{,}16 \times 10^8$ н/см^2 полоса с частотой 1452 $см^{-1}$ смещается в область более высоких частот на 2 $см^{-1}$, проявляясь при 1454 $см^{-1}$, которая после облучения потоком 3×10^8 н/см^2 также смещается в область высоких частот на 2 $см^{-1}$ и фиксируется при 1454 $см^{-1}$. Полоса поглощения на частоте

1454 $см^{-1}$ соответствует асимметричным деформационным колебаниям CH_3 (метильных) и CH_2 (метиленовых) групп, а также симметричным деформационным колебаниям CH_3 и CH_2 в жирных кислотах, фосфолипидах и триглицеридах. При выдержке образца в течение трёх суток формируется полоса поглощения с частотой 2872 $см^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ $н/см^2$ приводит к её смещению в область более высоких частот до 1 $см^{-1}$, и полоса фиксируется при 2873 $см^{-1}$. После облучения потоком $2{,}16 \times 10^8$ $н/см^2$ она смещается в область более высоких частот до 1 $см^{-1}$ и проявляется при 2873 $см^{-1}$, последующее облучения тепловыми нейтронами с потоком 3×10^8 $н/см^2$ также сдвигает эту полосу в область более высоких частот до 1 $см^{-1}$, фиксируя при 2873 $см^{-1}$. Полоса поглощения на частоте 2872 $см^{-1}$ соответствует симметричным валентным колебаниям $C-H$ связей в метильных ($-CH_3$) группах. Эта полоса характерна для сложных эфиров холестерола, триглицеридов и глицерола, где присутствуют алифатические углеводородные цепи. При выдержке образца в течение трёх суток формируется полоса поглощения с частотой 2927 $см^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ $н/см^2$ приводит к её смещению в область более высоких частот на 4 $см^{-1}$ и полоса фиксируется при 2931 $см^{-1}$. После облучения потоком $1{,}3 \times 10^8$ $н/см^2$ она смещается в область более низких частот на 2 $см^{-1}$ и проявляется при 2929 $см^{-1}$. Дальнейшее облучения тепловыми нейтронами с потоком 3×10^8 $н/см^2$ не изменяет частоту полосы и она остаётся неизменной. Полоса поглощения на частоте 2927 $см^{-1}$ соответствует асимметричным валентным колебаниям $C-H$ связей в метиленовых ($-CH_2$) группах. Эта полоса часто наблюдается в структурах жирных кислот и фосфолипидов, которые содержат длинные углеводородные цепи. При выдержке образца в течение трёх суток формируется полоса поглощения с частотой 2958 $см^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \times 10^8$ $н/см^2$ приводит к её смещению в область более низких частот до 2 $см^{-1}$ и полоса фиксируется при 2956 $см^{-1}$. После облучения потоком $2{,}16 \times 10^8$ $н/см^2$ она смещается в область более

высоких частот до 4 см⁻¹ и проявляется при 2962 $см^{-1}$ которая под воздействием тепловых нейтронов с потоком 3×10^8 $н/см^2$ смещается в область более высоких частот до 4 см⁻¹ и наблюдается при 2960 $см^{-1}$. Полоса поглощения на частоте 2958 $см^{-1}$ соответствует асимметричным валентным колебаниям $C-H$ связей в метильных ($-CH_3$) группах. Такая полоса характерна для молекул, содержащих алифатические углеродные цепи, таких как жирные кислоты, фосфолипиды, триглицериды, а также сложные эфиры холестерола. При выдержке образца в течение трёх суток регистрируется полоса поглощения с частотой 3068 $см^{-1}$. Под воздействием тепловых нейтронов с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ происходит её смещение в область более низких частот до 2 см⁻¹, и полоса фиксируется при 3066 $см^{-1}$. После облучения тепловыми нейтронами с потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ $н/см^2$ наблюдается смещение полосы в область более низких частот примерно на 2 $см^{-1}$, при этом она фиксируется около 3066 $см^{-1}$. При воздействии тепловых нейтронов с потоком $3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ данная полоса также смещается в область более низких частот и наблюдается при 3066 $см^{-1}$. Эта полоса соответствует валентным колебаниям связей $O-H$ и $N-H$.

Результаты ИК-спектроскопии сыворотки крови, выдержанной на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток и облучённой тепловыми нейтронами в диапазоне от $1{,}3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ до 3×10^8 $н/см^2$, свидетельствуют о смещении ряда полос поглощения, отражающих изменения в локальном окружении функциональных групп биомолекул. Наиболее выраженные изменения наблюдаются в области фосфатных групп, где положение полосы смещается от 1082 до 1078 $см^{-1}$, а также в области карбоксильных групп, где наблюдаются колебания в пределах 1242-1244 $см^{-1}$. Эти изменения могут указывать на перестройку системы межмолекулярных взаимодействий и изменение характера водородных связей. Для полос, связанных с аммонийными группами в области 1311-1317$см^{-1}$, характерен небольшой сдвиг на начальной стадии воздействия потока с последующей стабилизацией, что может быть обусловлено изменениями ионного состояния аммонийная группа. Полоса $C-N$ колебаний (1342-1346

$см^{-1}$) реагирует на поток смещаясь в начале, далее стабилизуется, в то время как карбоксилатные группы (1398-1400 $см^{-1}$) в начале стабильны, далее смещаются. Изменение в область высоких частот (2872-2958 $см^{-1}$) отражают перестройку липидных цепей. Устойчивый сдвиг $O-H$ и $N-H$ колебаний (3068-3066 $см^{-1}$) может указывать на изменение конформации белков.

4.2. Сравнительный анализ ИК-спектров облучённой и выдержанной на воздухе сыворотки куриного яйца

В данном разделе рассматриваются изменения спектральных параметров сыворотки куриного яйца, связанные с воздействием малых потоков тепловых нейтронов и выдержкой образцов на воздухе [1А, 4А, 14-18А, 20-А]. Сыворотку куриного яйца выбрали в качестве модельного биологического объекта из-за высокого содержания в ней белковых компонентов. Использование такого образца дало возможность отдельно проследить изменения, происходящие в белковой составляющей и сравнить их с изменениями, наблюдаемыми при исследовании сыворотки крови человека.

Для этого результаты, полученные после облучения, сравнивали с данными контрольных образцов, которые выдерживали на воздухе в течение соответствующего времени. Такой подход позволил учитывать изменения, связанные с хранением образцов, и более точно оценивать спектральные изменения, вызванные воздействием тепловых нейтронов.

Основное внимание уделяли изменению положения и интенсивности полос поглощения в ИК-спектрах. По этим изменениям оценивали характер структурных преобразований белковых компонентов сыворотки куриного яйца. Полученные результаты в дальнейшем сопоставляли с данными по сыворотке крови человека, что позволяло выявить общие особенности изменений, наблюдаемых после воздействия флюенсов нейтронов.

Цель данного раздела состояла в выявлении спектральных изменений, связанных именно с воздействием тепловых нейтронов, с учётом изменений, возникающих при выдержке образцов на воздухе. Для более корректной интерпретации результатов проведён сравнительный анализ частот максимумов

ИК-полос сыворотки, выдержанной в течение 3, 5 и 7 суток, а также образцов, облучённых малыми потоками тепловых нейтронов в диапазоне $(1{,}3 - 3) \cdot 10^8$ н/см^2.

На рисунках 4.7–4.12 представлены сравнительные инфракрасные спектры сыворотки куриного яйца, подвергнутой воздействию двух факторов: выдержке на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток и облучению малыми потоками тепловых нейтронов с флюенсами $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и $3 \cdot 10^8$ н/см^2.



Рисунок 4.7. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 3 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2, в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

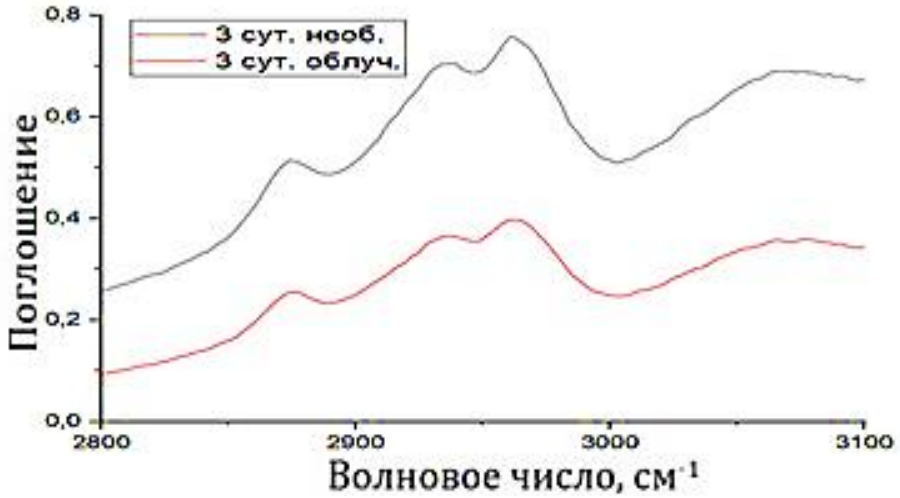

Рисунок 4.8. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 3 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

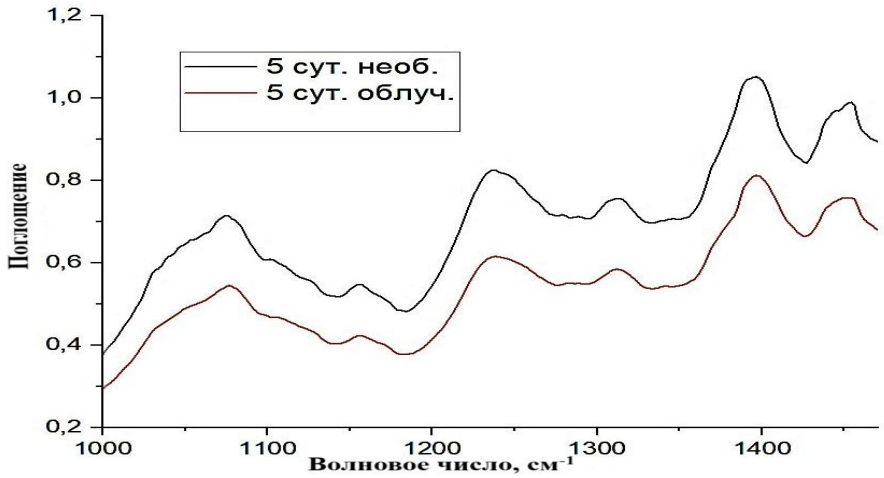

Рисунок 4.9. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 5 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

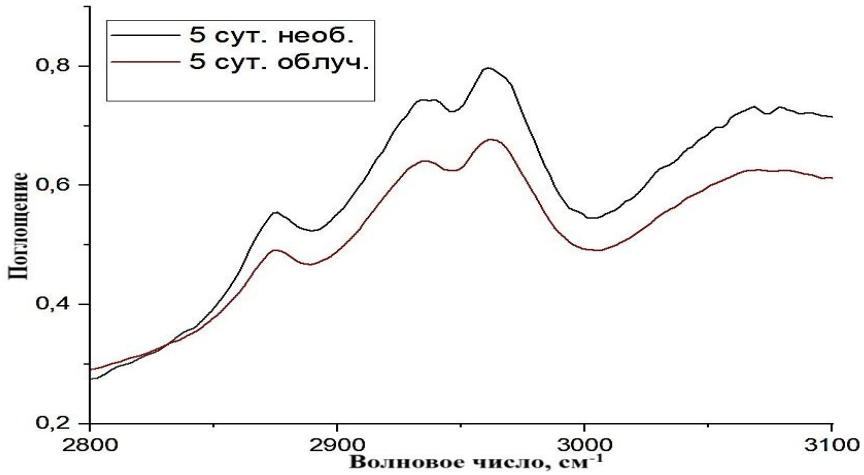

Рисунок 4.10. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 5 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $2,16 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

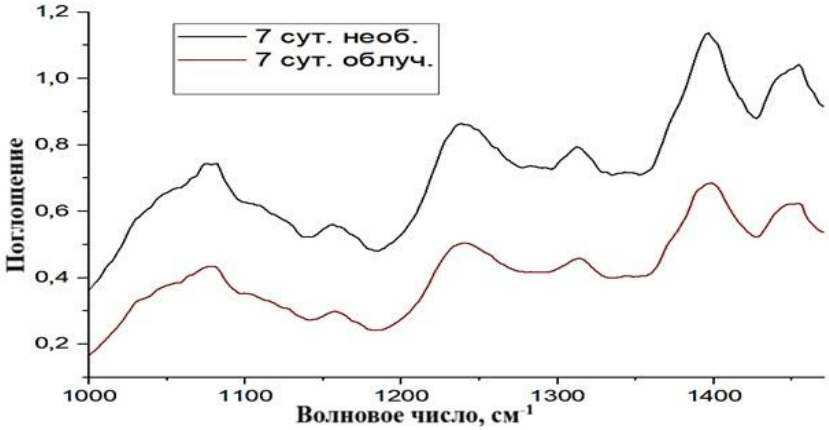

Рисунок 4.11. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 7 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 1000–1500 см$^{-1}$

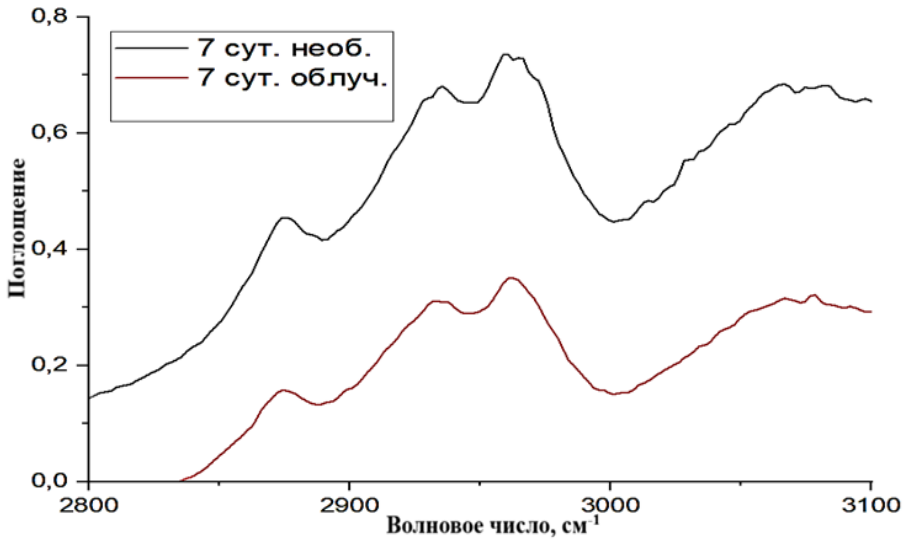

Рисунок 4.12. – Сравнительные ИК-спектры сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 7 суток и облучённой потоком тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 в диапазоне 2800–3100 см$^{-1}$

Данные спектры позволяют наглядно оценить влияние как естественного хранения, так и радиационного воздействия на структурные компоненты белков, липидов и других функциональных групп сыворотки.

В таблице 4.2 систематизированы данные, позволяющие оценить как направленность (высокочастотные или низкочастотные сдвиги), так и величину изменений спектральных параметров сыворотки куриного яйца.

Таблица 4.2. – Результаты сравнительного анализа частот максимумов ИК-полос поглощения сыворотки куриного яйца, выдержанной на воздухе в течение 3, 5 и 7 суток и облучённой малыми потоками тепловых нейтронов в диапазоне $(1,3-3) \cdot 10^8$ н/см^2

№	3 сут. необ.	$1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность	5 сут. необ.	$2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность	7 сут. необ.	$3 \cdot 10^8$ н/см^2	Разность
	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2	ν_1, см$^{-1}$	ν_2, см$^{-1}$	ν_1- ν_2
1	1080	1078	2	1074	1076	-2	1082	1080	2
2	1238	1238	0	1238	1238	0	1238	1240	-2
3	1311	1313	-2	1311	1311	0	1311	1311	0
4	1338	1340	-2	1338	1342	-4	1342	1344	-2
5	1396	1396	0	1396	1396	0	1396	1398	-2
6	1454	1454	0	1454	1452	2	1454	1454	0

									Продолжение таблицы 4.2
7	2873	2875	-2	2875	2875	0	2875	2873	2
8	2937	2935	2	2939	2935	4	2935	2937	-2
9	2962	2962	0	2960	2962	-2	2958	2962	-4
10	3070	3066	4	3068	3070	-2	3066	3066	0

Как видно из таблицы 4.2, при выдержке образца наблюдается полоса поглощения 1080 $см^{-1}$ и при облучении потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 (3 суток) данной полоса сдвигается в низкочастотную область до 1078 см$^{-1}$ на 2 см$^{-1}$, что может указывать на ослабление межмолекулярных взаимодействий в окружении фосфатных и карбоксильных групп. При увеличении потока тепловых нейтронов до $2{,}16 \cdot 10^8$ $н/см^2$ наблюдается изменение направления смещения полосы в низкочастотный области до 1076 $см^{-1}$, тогда как при флюенсе $3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ её положение смещается в высокочастотную область до 1080 $см^{-1}$. При выдержке формируется полоса поглощения 1238 $см^{-1}$. Этот полоса поглощения при облучении флюенсом $1{,}3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ остоётся стабилный. При выдержке до пяти суток и облучении с потоком тепловыми нейтронами $2{,}16 \cdot 10^8$ $н/см^2$ данная полоса поглащения не изменяется. При далнейшее облучении потоком тепловых нейтронов до $3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ полос поглощения сдвигается в высокочастотной области на 2 $см^{-1}$ до 1240 $см^{-1}$. При выдержке образца наблюдается полоса поглощения с частотой 1311 $см^{-1}$. Данная полоса поглощения при облучении потоком тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ смещается в высокочастотной область до 1313 $см^{-1}$. При далнейшее выдержке и облучения данная полоса поглашения не изменяется. При хранение образца формируется полоса поглощения с частотой 1338 $см^{-1}$. Данная полоса при облучения с флюенсом тепловых нейтронов $1{,}3 \cdot 10^8$ $н/см^2$ смещается в высокочастотный область до 1340 $см^{-1}$. При увеличении потоком до $2{,}16 \cdot 10^8$ $н/см^2$ полоса поглощения сдвигается на 4 $см^{-1}$ до 1342 $см^{-1}$. Далнейшее увеличение также приводит к смещение в высокочастотный область на 2 $см^{-1}$ до 1344 $см^{-1}$. При хранение образцов и облучении тепловыми нейтронами до $2{,}16 \cdot$

10^8 н/см^2 наблюдается полоса поглощения с частотой 1396 см$^{-1}$. При увеличении облучение до $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения сдвигается в высокочастотной область на 2 см$^{-1}$. При выдержке (3 суток) и облучении тепловыми нейтронами с потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения с частотой 1454 см$^{-1}$ остаётся стабильнее. Облучение потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 меняет её положение к низкочастотный область до 1452 см$^{-1}$ на 2 см$^{-1}$. При дальнейшее выдержке (7 суток) и облучения флюенсов тепловых нейтронов $3 \cdot 10^8$ н/см^2 полоса поглощения 1454 см$^{-1}$ не изменяется. При хранение образца в течение трёх суток наблюдается полоса поглощения с частотой 2873 см$^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 приводит к её смещению в область высоких частот до 2 см$^{-1}$ и полоса фиксируется при 2875 см$^{-1}$. После облучения потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 и выдержке до 5 суток не изменяется полоса поглощения. Последующее облучения тепловыми нейтронами с потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 сдвигает эту полосу в область низких частот до 2 см$^{-1}$ и фиксируя при 2873 см$^{-1}$. При выдержке образца (до 3 суток) формируется полоса поглощения с частотой 2937 см$^{-1}$. Облучение тепловыми нейтронами с потоком $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 приводит к её смещению в область низких частот на 2 см$^{-1}$ и полоса наблюдается при 2935 см$^{-1}$. После облучения потоком $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 данная полоса поглощения не изменяется. Дальнейшее облучения тепловыми нейтронами с потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 изменяет частоту полосы в область высоких частот на 2 см$^{-1}$. При выдержке образца (до 7 суток) и облучение с флюенсом $3 \cdot 10^8$ н/см^2 наблюдается полоса поглощения с частотой 2962 см$^{-1}$. При выдержке образца (до 3 суток) формируется полоса поглощения с частотой 3070 см$^{-1}$. Под воздействием тепловых нейтронов с флюенсом $1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2 происходит её смещение в область низких частот до 4 см$^{-1}$ и полоса фиксируется при 3066 см$^{-1}$. После облучения тепловыми нейтронами с флюенсами $2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2 наблюдается смещение полосы в область высоких частот на 2 см$^{-1}$. При воздействии тепловых нейтронов с потоком $3 \cdot 10^8$ н/см^2 данная полоса не изменяется.

4.3. Сравнительный анализ спектральных изменений в сыворотке крови человека и сыворотке куриного яйца при воздействии малых потоков тепловых нейтронов

Для выявления общих закономерностей изменения спектральных характеристик под действием малых флюенсов тепловых нейтронов проводили спектральный анализ ИК-спектров сыворотки крови человека и сыворотки куриного яйца, которую использовали в качестве модельной белковой системы. Выбор модельного объекта обусловлен его относительной структурной простотой, высокой воспроизводимость и возможностью выделения фундаментальных механизмов воздействия без влияния сложных регуляторных факторов, характерных для крови человека.

Анализ ИК-спектров показал, что в обоих объектах наблюдаются изменения положения полос поглощения, преимущественно в области амидных колебаний (Амид 3), а также в диапазонах, соответствующих колебаниям связей $C-N$ и $C-H$. Данные изменения отражают перестройку белково-липидной матрицы и изменение системы межмолекулярных взаимодействий под действием нейтронного облучения.

Для количественной оценки спектральных изменений были выбраны наиболее чувствительные полосы, результаты анализа которых представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3. Сравнительный анализ спектральных сдвигов в сыворотке крови человека и сыворотке куриного яйца

№	Полоса ($см^{-1}$)	Δν (кровь), $см^{-1}$	Направление (кровь)	Полоса (яйцо), $см^{-1}$	Δν (яйцо), $см^{-1}$	Направление (яйцо)
1	1082 → 1078	4	к меньшим ν	1080 → 1078	2	к меньшим ν
2	1242 → 1240	2	к меньшим ν	1238 → 1238	0	не изменяется
3	1244 → 1238	6	к меньшим ν	1238 → 1238	0	не изменяется

						Продолжение таблицы 4.3.
3	1244 → 1238	6	к меньшим ν	1238 → 1238	0	не изменяется
4	1315 → 1313	2	к меньшим ν	1311 → 1311	0	не изменяется
5	1398 → 1398	0	не изменяется	2931 → 2929	2	к меньшим ν
6	2931 → 2929	2	к меньшим ν	2939 → 2935	4	к меньшим ν
7	2958 → 2956	2	к меньшим ν	2962 → 2962	0	не изменяется
8	3068 → 3066	2	к меньшим ν	3070 → 3066	4	к меньшим ν

Как следует из представленных данных, в сыворотке крови человека наблюдаются более выраженные спектральные сдвиги, особенно в области амидных полос (1242-1315 $см^{-1}$), что свидетельствует о высокой чувствительности белковых структур к воздействию тепловых нейтронов. В сыворотке куриного яйца часть соответствующих полос остаётся неизменной, что указывает на более устойчивый характер её молекулярной структуры.

Вместе с тем, для ряда полос, особенно в области валентных колебаний $C-H$, в обоих объектах наблюдаются совпадающие по направлению сдвиги в сторону меньших волновых чисел. Сходный характер спектральных изменений в сыворотке крови человека и сыворотке куриного яйца указывает на общность процессов, происходящих под воздействием малых потоков тепловых нейтронов. Наблюдаемые низкочастотные смещения полос могут быть связаны с изменением локального окружения функциональных групп и перестройкой межмолекулярных взаимодействий. Полученные результаты подтверждают возможность использования сыворотки куриного яйца в качестве модельной системы для исследования влияния тепловых нейтронов на белковые структуры.

4.4. Биохимический анализ воздействия тепловых нейтронов на сыворотки крови

В предыдущих разделах работы с помощью метода ИК-спектроскопии были выявлены изменения спектральных характеристик сыворотки крови, возникающие как в процессе хранения на воздухе, так и под воздействием малых потоков тепловых нейтронов. Однако ИК-спектроскопия позволяет оценить преимущественно молекулярно-структурные перестройки и не даёт прямой информации о функциональном состоянии белково-ферментных систем. В связи с этим для подтверждения и углублённой интерпретации выявленных спектральных изменений был проведён биохимический анализ исследуемых образцов [5-А, 9-А].

Целью данного этапа исследования являлась оценка функционального состояния белково-ферментных систем сыворотки крови при воздействии двух факторов: естественного хранения на воздухе (3, 5 и 7 суток) и облучения малыми потоками тепловых нейтронов в диапазоне флюенсов $(1 - 1{,}3) \cdot 10^8$ н/см^2.

Результаты биохимического анализа представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Биохимические показатели сыворотки крови при выдержке и облучении

Показатель	**Норма**	**3 сут. необ.**	**$1{,}3 \cdot 10^8$ н/см^2**	**5 сут. необ.**	**$2{,}16 \cdot 10^8$ н/см^2**	**7 сут. необ.**	**$3 \cdot 10^8$ н/см^2**
АлАт	10-40 Ед/л	10,1	8,4	9,4	9,4	9,3	9,3
АсАТ	10-40 Ед/л	20	10,5	11,9	11,9	9,1	8,8
Общий белок	64-83 г/л	68	72	74	76	69,7	74,3
Глюкоза	3.9-5.5 ммоль/л	6,9	7,1	7,2	8,5	6,9	7,1

Анализ данных показывает, что при хранении сыворотки крови на воздухе в течение 3-7 суток активность АлАТ демонстрирует незначительное снижение (с 10,1 до 9,3 Ед/л), оставаясь в пределах физиологической нормы (10-40 Ед/л). Аналогичная тенденция наблюдается для АсАТ: от 20 Ед/л на 3-и сутки до 9,1 Ед/л на 7-е сутки хранения. Данные изменения носят умеренный характер и не свидетельствуют о выраженной деструкции белково-ферментных систем.

Концентрация общего белка при хранении изменяется незначительно: от 68 г/л (3 сутки) до 74 г/л (5 сутки) с последующим снижением до 69,7 г/л к 7 суткам. Все значения находятся в пределах физиологической нормы (64-83 г/л), что указывает на относительную стабильность белкового состава сыворотки при кратковременной выдержке.

«Уровень глюкозы в выдержанных образцах изменяется в пределах 6,9-7,2 ммоль/л, что несколько превышает референсные значения (3,9-5,5 ммоль/л), однако при увеличении времени хранения выраженной направленной динамики не наблюдается. Вероятно, это связано с особенностями метаболической стабилизации образцов в условиях $in\ vitro$» [65].

После воздействия малых потоков тепловых нейтронов ($1{,}3 \cdot 10^8$; $2{,}16 \cdot 10^8$и $3 \cdot 10^8$ н/см^2) активность АлАТ находится в диапазоне 8,4-9,3 Ед/л, а АсАТ в диапазоне 8,8-11,9 Ед/л. Полученные значения остаются в пределах физиологической нормы и существенно не отличаются от показателей выдержанных образцов.

Концентрация общего белка в облучённых образцах составляет 72-76 г/л, что сопоставимо с данными для выдержанных образцов и также соответствует нормальным значениям. Уровень глюкозы после облучения изменяется в диапазоне 7,1-8,5 ммоль/л, демонстрируя умеренные колебания без признаков выраженных метаболических нарушений.

Таким образом, результаты биохимического анализа показывают, что как хранение на воздухе, так и воздействие малых потоков тепловых нейтронов вызывают лишь незначительные изменения исследованных показателей, которые остаются в пределах физиологической нормы. Существенных

нарушений белково-ферментных систем сыворотки крови не выявлено. Сопоставление биохимических данных с результатами ИК-спектроскопии позволяет предположить, что наблюдаемые спектральные изменения связаны главным образом с локальной перестройкой микроокружения функциональных групп белков и липидов и не сопровождаются выраженными изменениями белкового состава или ферментативной активности.

Полученные результаты свидетельствуют о сохранении функциональной стабильности сыворотки крови после воздействия тепловых нейтронов в исследованном диапазоне флюенсов.

4.5. Квантово-механический расчёт действия тепловых нейтронов на спектральные параметры сыворотки крови

В настоящее время особый интерес представляет изучение молекулярных механизмов воздействия ядерного излучения малого потока на биологические системы. В отличие от высоких поток радиации, малые потоки тепловых нейтронов не приводят к мгновенному разрушению биомолекул, однако способны инициировать локальные ядерные реакции, вызывающие тонкие структурные перестройки [42-47]. Одним из наиболее вероятных каналов взаимодействия тепловых нейтронов с белками является взаимодействие с ядрами азота, широко представленными в пептидных связях $-C(O)-NH-$ [18-А]. Пептидная связь $-C(O)-NH-$ является основным структурным элементом белковой матрицы и определяет положение полос Амид 1, Амид 2 и Амид 3 в ИК-спектре. Атом азота входит в состав каждой амидной группы, что делает его потенциальной мишенью для ядерных реакций при облучении тепловыми нейтронами [5-А, 19-А].

В предыдущих разделах диссертационной работы установлено, что воздействие малых потоков тепловых нейтронов в диапазоне флюенсов $(1{,}3-3)\cdot 10^8$ н/см^2 сопровождается регистрируемыми изменениями ИК-спектров сыворотки крови. Наиболее выраженные сдвиги наблюдаются в области амидных полос, отражающих колебательные характеристики пептидной связи белков. Для установления физического механизма данных изменений в

настоящем разделе выполнен квантово-механический анализ возможных нейтрон-индуцированных процессов на атомах азота пептидной группы [18-А].

В белках сыворотки крови человека, в частности в сывороточном альбумине, основная доля атомов азота (~86 %) локализована именно в пептидных группах. Поэтому реакции $^{14}N(n,\gamma)^{15}N$ (радиационный захват) и $^{14}N(n,p)^{14}C$ (реакция с испусканием протона) могут играть ключевую роль в формировании нейтрон-индуцированных изменений колебательных и конформационных характеристик белков, регистрируемых методом ИК-Фурье спектроскопии. Первая реакция приводит к изотопной замене без изменения химической природы связи, но сопровождается увеличением массы ядра азота. Увеличение массы атома азота ($^{14}N \rightarrow {}^{15}N$) приводит к увеличению приведённой массы и, следовательно, к уменьшению частоты колебаний. Это должно проявляться как отрицательный сдвиг полос (смещение в сторону меньших волновых чисел). Вторая реакция связана с трансмутацией элемента и потенциальной локальной перестройкой структуры пептидной группы.

Квантово-механические методы широко применяются при исследовании молекулярных систем и межмолекулярных взаимодействий. Развитие вычислительной техники позволило проводить расчёты электронного строения молекул, их энергетических характеристик и колебательных параметров на основе решения стационарного уравнения Шрёдингера.

Квантово-механический расчёты проводились для анализа возможного влияния изотопной замены N^{14} на N^{15} на колебательные характеристики пептидных групп и положение полос ИК-поглощения. В основе расчётов лежит решение стационарного уравнение Шрёдингера:

$$\hat{H}\psi(\vec{r},\vec{R}) = E\psi(\vec{r},\vec{R}) \qquad (4.1)$$

где $\hat{H}$ – гамильтониан системы, ψ – волновая функция, E - полная энергия системы.

При расчётах использовалось адиабатическое приближение Борна-Оппенгеймера, согласно которому движение электронов и ядер рассматривается

раздельно. Полная волновая функция системы представляется в виде произведения электронной и ядерной составляющих:

$$\psi(\vec{r},\vec{R}) = \psi_э(\vec{r},\vec{R})\psi_я(\vec{r},\vec{R}) \qquad (4.2)$$

где, $\vec{r}$ – координаты электронов, $\vec{R}$ – координаты ядер.

«Для количественной оценки эффекта выполнены квантово-механические расчёты методом теории функционала плотности (DFT) с использованием функционала $B3LYP$ и базисного набора $6-311++G(d,p)$ в программном пакете $Gaussian\,09W$» [130-135]. Расчёты включали оптимизацию геометрии модельной пептидной группы и вычисление гармонических частот. Изотопная замена моделировалась изменением массы атома азота без изменения геометрии.

Согласно результатам расчёта, увеличение приведённой массы осциллятора приводит к уменьшению частоты колебаний, что соответствует отрицательному сдвигу полос (смещению в сторону меньших волновых чисел).

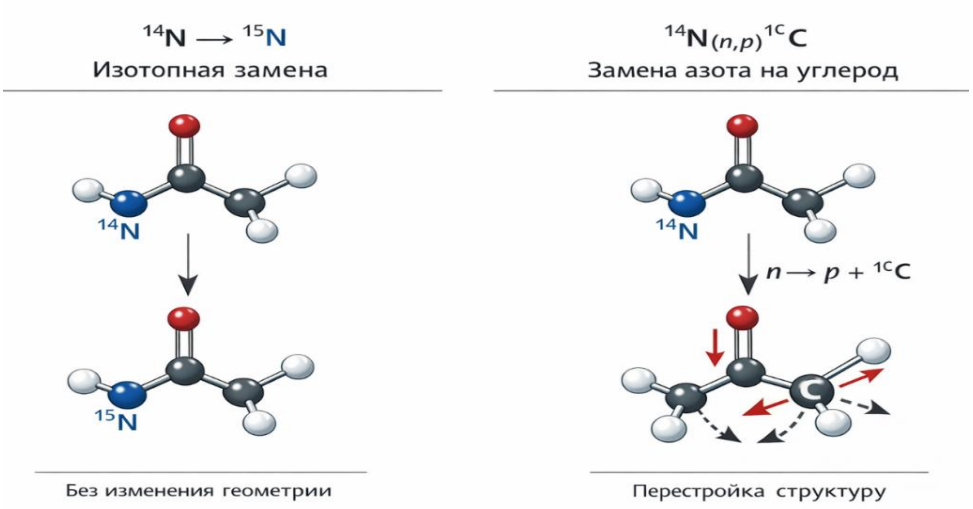

Рисунок 4.13. – Моделирование изменений пептидной группы при изотопной замене $^{14}N \rightarrow {}^{15}N$ и реакции $^{14}N(n,p)^{14}C$

На рисунке 4.13 показано влияние двух типов нейтрон-индуцированных реакций на пептидную группу: Изотопная замена $^{14}N \rightarrow {}^{15}N$ приводит к снижению колебательных частот, прежде всего в области Амид 2, что обусловлено увеличением приведённой массы соответствующего осциллятора.

В случае реакции $^{14}N(n,p)^{14}C$ наблюдается более выраженные изменения колебательных характеристик, которые могут быть связаны с изменениям

амидного характера связи и пристройкой локальной электронной структуры. В результате таких изменений возможно ослабление или исчезновение отдельных характерных амидных полос в ИК-спектре.

Полученные данные показывают, что две нейтрон-индуцированные реакции, рассмотренные выше, могут по разному влиять на состояние пептидных связей. Поскольку атом азота входит в состав каждой пептидной группы белков, изменения его локального окружения могут отражаться на спектральных характеристиках белковых молекул и проявляться. В ИК-спектре это проявляется, в частности, изменением положения и интенсивности соответствующих полос поглощения.

Для оценки таких изменений были исследованы ИК-спектры сыворотки крови до и после облучения тепловыми нейтронами при различных флюенсов. При анализе спектров обращали внимание прежде всего на полосы, связанные с колебаниями пептидных групп, а также на полосы валентных колебаний связей $C-H$, $C-O$ и $C-H$, характерных для белковых структур.

Сравнение полученных спектров показало, что после облучения положение некоторых полос поглощения изменяется. Эти изменения были небольшими, однако в ряде случаев сохранялись при различных значениях флюенсов. Наиболее заметные изменения выявлены в области 1000-1400 $см^{-1}$, соответствующей колебаниям пептидных групп белков.

Для количественной оценки были определены исходные частоты полос поглощения, частоты после облучения и рассчитаны величины их смещения $\Delta\nu$. Результаты проведённых измерений представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5. – Наиболее чувствительные к воздействию малых потоков тепловых нейтронов полосы ИК-поглощения сыворотки крови

Полоса (контроль), $см^{-1}$	**Флюенс, $н/см^2$**	**Частота после облучения, $см^{-1}$**	**$\Delta\nu$, $см^{-1}$**	**Направление сдвига**	**Соответствие КМ расчёту**
1082	$1{,}3 \cdot 10^8$	1078	4	в сторону меньших ν	соответствует
1242	$3 \cdot 10^8$	1240	2	в сторону меньших ν	соответствует

Продолжение таблицы 4.5					
1244	$3 \cdot 10^8$	1238	6	в сторону меньших ν	соответствует
1315	$1{,}3 \cdot 10^8$	1313	2	в сторону меньших ν	соответствует
1342	$2{,}16 \cdot 10^8$	1340	2	в сторону меньших ν	соответствует
3068	$3 \cdot 10^{8_8}$	3066	2	в сторону меньших ν	соответствует

Анализ полученных данных показывает, что наиболее выраженное изменение частоты наблюдается для полосы 1244 $см^{-1}$, соответствующей колебаниям амидной полосы 3 (Амид 3I) пептидной группы. Величина смещения в данном случае достигает 6 $см^{-1}$.

Это свидетельствует о высокой чувствительности амидных колебаний белковых молекул к воздействию нейтронного излучения.

Смещения полос также зарегистрированы для:

полосы 1082 $см^{-1}$, связанной с колебаниями $C-N$ и $C-O$ белковых структур,

полос 1242–1244 $см^{-1}$, соответствующих колебаниям Амид 3,

полосы 1315 $см^{-1}$, обусловленной колебаниями $C-N$ пептидной связи,

полосы 1342 $см^{-1}$, связанной с амидными колебаниями белков,

полосы 3068 $см^{-1}$, относящейся к валентным колебаниям $C-H$.

Наблюдаемое смещение полос в сторону меньших частот согласуется с результатами квантово-механического моделирования. Согласно расчётам, изотопная замена ^{14}N на ^{15}N, возникающая в результате реакции $^{14}N(n,\gamma)^{15}N$, приводит к увеличению приведённой массы колебательной системы.

4.6. Механизм влияния тепловых нейтронов на спектральные параметры сыворотки крови

«Для объяснения полученных результатов необходимо рассмотреть возможные физические и молекулярные процессы, которые могут происходить в сыворотке при воздействии малых флюенсов тепловых нейтронов. Проведённые исследования показали, что после облучения изменяется

отдельные полос ИК-поглощения, а в некоторых случаях и их интенсивность. Это свидетельствует о том, что воздействие нейтронов может сопровождаться изменениями в структуре биомолекул» [42, с. 94; 47, с. 117].

«Сыворотки крови является сложной многокомпонентной системой. В её состав входят белки, липиды, аминокислоты, вода и другие низкомолекулярные соединения. Поэтому формирование ИК-спектра связано одновременно с колебаниями большого числа функциональных групп. При исследовании структурных изменений белков особое значение имеют амидные полосы. Полосы Амид 1, Амид 2 и Амид 3 широко используются для оценки состояния белковых молекул, поскольку их положения и форма зависят от характера колебаний пептидных групп, конформации белка и межмолекулярных взаимодействий» [62, с. 1747].

Сравнение полученных ИК-спектров показало, что воздействие малых флюенсов тепловых нейтронов сопровождается небольшими, но устойчивыми изменениями положения ряда полос поглощения. Наиболее заметные изменения отмечены в области Амид 3, а также для полос, связанных с колебаниями связей $C-N$ и $N-H$. Изменения наблюдались и в области валентных колебаний $C-N$.

В исследованном диапазоне величина смещения отдельных полос составляла примерно 2-6 $см^{-1}$, причём в большинстве случаев наблюдалось смещения в сторону меньших волновых чисел. Такое изменение положения полос может быть связано с изменением колебательных характеристик функциональных групп, входящих в состав белковых молекул. Поскольку положение полосы зависит от характера химической связи и её молекулярного окружения, даже небольшое смещение может указывать на изменение состояния соответствующей структурной группы.

Особенно важно, что выявленные изменения не сводятся только к одной отдельной полосе. Смещение наблюдается одновременно в нескольких спектральных областях, относящихся к различным колебательным группам белковых молекул. Это позволяет предположить, что воздействие тепловых

нейтронов при исследованных флюенсов связано не с локальным изменением одной функциональный группы, а с некоторой перестройкой молекулярного окружения белковых компонентов сыворотки.

При этом наблюдаемые изменения нельзя однозначно связывать с разрушением белковых молекул. При небольших флюенсов нейтронов более вероятны незначительные изменения состояния отдельных химических связей, их окружения и взаимодействия белков с другими компонентами сыворотки. Именно поэтому в спектрах регистрируется небольшие смещения полос, а не полное исчезновение характерных полос поглощения.

Одним из ключевых факторов, способных обусловить наблюдаемые изменения, является взаимодействие тепловых нейтронов с атомными ядрами элементов, входящих в состав белковых молекул. Среди таких элементов особую роль играет азот, поскольку он входит в структуру пептидных связей, формирующих основу белковой макромолекулы. При захвате тепловых нейтронов ядрами азота могут реализовываться ядерные реакции типа $^{14}N(n,\gamma)^{15}N$, сопровождающиеся образованием изотопа ^{15}N. Кроме того, возможна реакция $^{14}N(n,p)^{14}C$, в результате которой происходит трансформация атомного ядра и образование изотопа углерода.

Изменение изотопного состава атомов, участвующих в формировании колебательной системы, приводит к модификации её динамических характеристик. Согласно основным положениям теории колебательной спектроскопии, частота молекулярных колебаний определяется соотношением между жёсткостью химической связи и приведённой массой взаимодействующих атомов. Увеличение приведённой массы системы вследствие изотопной замены атомов азота приводит к уменьшению частоты соответствующих колебаний. Именно этот эффект может являться одной из причин наблюдаемого низкочастотного смещения полос ИК поглощения в спектрах облучённых образцов сыворотки крови.

Наряду с изотопными эффектами существенную роль могут играть изменения в системе межмолекулярных взаимодействий, прежде всего

водородных связей. Белковые молекулы сыворотки крови формируют сложную пространственную структуру, стабилизированную системой водородных связей между пептидными группами и молекулами воды. Даже небольшие изменения электронной плотности или локальной структуры пептидных фрагментов способны приводить к перераспределению этих взаимодействий. В результате изменяются параметры водородных связей, что отражается на колебательных характеристиках амидных групп и, соответственно, на положении полос инфракрасного поглощения.

Дополнительным фактором, способствующим модификации спектральных характеристик, может являться изменение микроокружения белковых молекул в водной матрице сыворотки. Нейтронное воздействие способно инициировать локальные радиационно-химические процессы в водной фазе, приводящие к образованию активных частиц и изменению структуры водородно-связанной сети воды. Это, в свою очередь, влияет на гидратационную оболочку белковых молекул и может приводить к изменению конформационного состояния отдельных фрагментов белковой структуры.

Сопоставление экспериментально наблюдаемых спектральных сдвигов с результатами квантово-механических расчётов показывает их качественное и количественное согласование. Моделирование колебательных спектров пептидных групп при изотопной замене атомов азота показывает аналогичное снижение частот соответствующих колебаний. Это согласуется с характером смещений, наблюдаемых в экспериментальных ИК-спектров сыворотки крови и подтверждает возможность такой интерпретации полученных данных.

При исследованных флюенсов тепловых нейтронов изменения в основном проявляются в виде небольших смещений спектральных полос и не указывают на выраженное разрушение белковых молекул. Такой вывод согласуется с результатами биохимического анализа при котором не было обнаружено существенного уменьшения содержания общего белка или других компонентах которые изучили. Вместо с тем изменение активности отдельных ферментов

может отражать их различную чувствительность к воздействию нейтронов и последующую реакцию биологической системы на это воздействие.

Заключение к главе 4

- в четвёртой главе проведён сравнительный анализ ИК-спектров биологических жидкостей после воздействия малых флюенсов тепловых нейтронов и выдержки на воздухе. Сопоставление облучённых образцов с контрольными позволило учитывать изменения, связанные с естественным хранением и отдельно оценить спектральные изменения возникающие после нейтронного облучения.

- для сыворотки крови установлено, что после воздействия тепловых нейтронов изменяется положения ряда полос ИК-поглощения. Наиболее заметные смещения обнаружены в области Амид 3, а также для полос связанных с колебаниями $C-N, N-H$ и $C-H$. В исследованном диапазоне флюенсов величина смещений составляла около 2-6 $см^{-1}$, причём преимущественно в сторону меньших волновых чисел. Полученные изменения указывают на изменение состояния пептидных групп и их молекулярного окружения в белковых компонентах сыворотки;

- сопоставление экспериментальных данных с результатами квантово-механического моделирования показало сходный характер изменения частот колебаний при изотопной замене атомов азота. Снижение частот в расчётах согласуется с наблюдаемыми смещениями полос в экспериментальных спектрах. Это даёт основание рассматривать изотопный эффект, возникающий при радиационном захвате тепловых нейтронов ядрами азота, как один из возможных факторов, влияющих на положение соответствующих полос ИК-поглощения;

- полученные результаты также показывают, что при исследованных флюенсов нейтронов не происходит выраженного разрушения белковой матрицы сыворотки. Изменения спектральных параметров имеют преимущественно умеренный характер и проявляются главным образом в смещении отдельных

полос. Данные биохимического анализа также не выявили существенного снижения содержания общего белка после нейтронного воздействия. Изменение активности отдельных ферментов, в том числе трансаминаз, может быть связано с реакцией биологической системы на облучение;

- для модельной системы (сыворотки куриного яйца) – выявлены сходные изменения спектральных характеристик, что подтверждает воспроизводимость и универсальность предложенного подхода к анализу структурных изменений белковых биосистем;

- показано, что амидные полосы Амид 2 и Амид 3 являются наиболее информативными индикаторами изменений структуры белков, поскольку они чувствительны к конформационным изменениям и состоянию водородных связей в белковых молекулах/

Выводы

Следует отметить, что в ходе научных исследований основная цель диссертационной работы, заключающаяся в исследовании влияние малых потоков тепловых нейтронов на спектральные и биохимические свойства биологических объектов решены и диссертационная работа выполнена полностью.

В рамках данной работы предлагаются следующие научные результаты:

1. Разработан и реализован комплексный экспериментальный подход к исследованию влияния малых потоков тепловых нейтронов на биологические жидкости, основанный на сочетании ИК Фурье-спектроскопии и биохимического анализа. Предложенная новая методика пробоподготовки и регистрации спектров обеспечивает получение высококачественных и воспроизводимых ИК-спектров биологических объектов [1-18-А, 20-А].
2. Установлены закономерности изменения ИК спектров крови, сыворотки крови и сыворотки куриного яйца при хранении и воздействии тепловых нейтронов. Показано, что различные функциональные группы биомолекул (амидные, карбоксилатные, алифатические, фосфатные) обладают различной чувствительностью к изменениям микроокружения и внешним воздействиям [1-6-А, 11-17-А, 20-А].
3. Выявлено, что воздействие малых потоков тепловых нейтронов приводит к изменениям спектральных характеристик биологических систем, проявляющимся в смещениях частот полос ИК поглощения и изменении их интенсивности. Наиболее чувствительными индикаторами структурных изменений белков являются амидные полосы, особенно в области Амид 2 и Амид 3 [1-6-А, 10А, 16-А].
4. Предложена и реализована методика сравнительного анализа ИК спектров, позволяющая разделить эффекты естественного хранения образцов и воздействия ядерного излучения. Применение компенсации частот полос облучённых образцов значениями контрольных образцов

позволило выделить спектральные изменения индуцированные ядерным излучением [1-5-А, 11-А, 13-А, 20-А].

5. Показано, что наблюдаемые спектральные сдвиги согласуются с результатами квантово-механического моделирования и могут быть объяснены изотопными эффектами, возникающими при ядерных реакциях взаимодействия тепловых нейтронов с атомами азота в составе белковых молекул, в частности ядерной реакцией $^{14}N(n, \gamma)^{15}N$ приводящий к изменению колебательных характеристик молекулярных групп [1-5-А, 19-А].
6. Результаты биохимического анализа показали, что малые потоки тепловых нейтронов не вызывали выраженных повреждений, а сопровождались изменением активности отдельных ферментов [5-А, 8-А].
7. Полученные результаты показали, что ИК-спектроскопия является эффективным методом для исследования структурных изменений в биологических жидкостях [1–20-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов исследования

Полученные результаты могут быть использованы при дальнейшем исследовании влияния малых флюенсов тепловых нейтронов на свойства конденсированных сред, в том числе на биологические объектов. Показано, что ИК-спектроскопия позволяет регистрировать изменения спектральных характеристик сыворотки крови, связанные с состоянием белковых и липидных компонентов.

Предложенный подход к анализу ИК-спектров в сочетании с биохимическими исследованиями может применяться для изучения процессов, происходящих в биологических жидкостях при выдержке и воздействием малых флюенсов тепловых нейтронов.

Результаты квантово-механических расчётов могут быть использованы для интерпретации наблюдаемых спектральных изменений и установления их связи с особенностями молекулярного строения исследуемых систем.

Полученные данные могут найти применение в исследованиях по физике конденсированных сред, биофизике, медицинской физике и радиационной биологии, связанных с изучением влияния низкоинтенсивного нейтронного излучения на биологические системы.

Список литературы

1. Imaoka, T. Biological Effects of Neutron Radiation: An Overview / T. Imaoka // Radiation Medicine Research. – 2022. – V. 42, №2. – P. 73–79. – DOI: 10.11323/jjmp.42.2_73.
2. Paterson, L.C. High-Accuracy Relative Biological Effectiveness Values Following Low-Dose Thermal Neutron Exposures Support Bimodal Quality Factor Response with Neutron Energy / L.C. Paterson, A. Festarini, M. Stuart, F. Ali, C. Costello, C. Boyer, R. Rogge, N. Ybarra, J. Kildea, R.B. Richardson // Radiation Research. – 2022. – V. 23, №2. – P. 878. – DOI: 10.3390/ijms23020878.
3. Awad, M.M. Biomarker Dosimetry of Acute Low Level of Thermal Neutrons and Radiation Adaptive Response Effect on Rats / M.M. Awad, M.H. Abdelgawad, E. Aboelezz, K.T. Ereiba // Scientific Reports. – 2024. – V. 14, №1. – P. 18534. – DOI: 10.1038/s41598-024-68640-z.
4. Paterson, L.C. Relative biological effectiveness of 31 meV thermal neutrons in peripheral blood lymphocytes / L.C. Paterson, F. Ali, M. Naseri, D.P. Loureiro, A. Festarini, M. Stuart, C. Boyer, R. Rogge, C. Costello, N. Ybarra // Radiation Protection Dosimetry. – 2025. – V. 201, №4. – P. 297–313. – DOI: 10.1093/rpd/ncae231.
5. Dennis, J.A. Relative biological effectiveness of neutron radiation and its implications for quality factor and dose limitation / J.A. Dennis // Progress in Nuclear Energy. – 1987. – V. 20, №2. – P. 133–149. – DOI: 10.1016/0149-1970(87)90018-7.
6. Aboelezz, E. Evaluation of thermal neutron dose from Am-Be source using gelatinized boron fricke dosimeter / E. Aboelezz, M.H. Abdelgawad, S.A. Eman, G.M. Hassan // Radiation Physics and Chemistry. – 2019. – V. 162. – P. 131–135. – DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.04.037.
7. Banaee, N. Neutron Contamination in Radiotherapy Processes: A Review / N. Banaee, K. Goodarzi, H.A. Nedaie // Journal of Radiation Research. – 2021. – V. 62, №6. – P. 947–957. – DOI: 10.1093/jrr/rrab076.

8. Coggle, J.E. Biological Effects of Radiation / J.E. Coggle. – Taylor & Francis, London, 1983.
9. Hall, E.J. Radiobiology for the Radiologist / E.J. Hall, A.J. Giaccia. – 8th ed. – Lippincott Williams & Wilkins, 2018.
10. Alpen, E.L. Radiation Biophysics / E.L. Alpen. – Academic Press, 1998.
11. Feinendegen, L.E. Responses to low doses of ionizing radiation in biological systems / L.E. Feinendegen, M. Pollycove, C.A. Sondhaus // Nonlinearity in Biology, Toxicology, Medicine. – 2004. – V. 2, №3. – DOI: 10.1080/15401420490507431. – P. 143–170.
12. Elgazzar, A.H. Biological Effects of Ionizing Radiation / A.H. Elgazzar, N. Kazem // In: The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine. – Springer. – 2006. – P. 540–548. DOI: 10.1007/978-3-540-47953-6_23.
13. Mohan, S. Biological effects of radiation / S. Mohan, V. Chopra // Radiation Dosimetry Phosphors. – Woodhead Publishing. – 2022. – P. 485–508.
14. Tucker, J.D. Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: a review / J.D. Tucker // Mutation Research. – 2008. – V. 659, №3. – P. 211–220.
15. Tubiana, M. Recent reports on the effect of low doses of ionizing radiation and its dose–effect relationship / M. Tubiana et al. // Radiation and Environmental Biophysics. – 2006. – V. 44, №4. – P. 245–251.
16. Byakov, V.M. The mechanism for the primary biological effects of ionizing radiation / V.M. Byakov, S.V. Stepanov // Physics-Uspekhi. – 2006. – V. 49, №5. – P. 469.
17. Girdhani, S. Biological effects of proton radiation: what we know and don't know / S. Girdhani, R. Sachs, L. Hlatky // Radiation Research. – 2013. – V. 179, №3. – P. 257–272.
18. Jacobson, L.O. The hematological effects of ionizing radiations / L.O. Jacobson, E.K. Marks, E. Lorenz // Radiology. – 1949. – V. 52, №3. – P. 371–395.
19. Baselet, B. Cardiovascular diseases related to ionizing radiation: The risk of low-dose exposure / B. Baselet et al. // International Journal of Molecular Medicine. – 2016. – V. 38, №6. – P. 1623–1641.

20. Maalouf, M. Biological effects of space radiation on human cells: history, advances and outcomes / M. Maalouf, M. Durante, N. Foray //Journal of radiation research. – 2011. – T. 52. – №. 2. – C. 126-146.
21. Polikarpov, G.G. Conceptual model of responses of organisms to ionising radiation / G.G. Polikarpov // Radiation Protection Dosimetry. – 1998. – V. 75, №1–4. – P. 181–185.
22. Cucinotta, F.A. Risks of cognitive detriments after low dose heavy ion and proton exposures / F.A. Cucinotta, E. Cacao // International Journal of Radiation Biology. – 2019. – V. 95, №7. – P. 985–998.
23. Gribkov, V. PF-6 plasma focus as a source of ionizing radiation and plasma streams / V. Gribkov et al. // Nukleonika. – 2006. – V. 51, №1. – P. 55–62.
24. Kudryashov, I.U.B. Radiation Biophysics (Ionizing Radiations) / I.U.B. Kudryashov. – Nova Publishers, 2008.
25. Bagatin, M. Ionizing Radiation Effects in Electronics / M. Bagatin, S. Gerardin. – 2016.
26. Oftedal, P. Biological low-dose radiation effects / P. Oftedal // Mutation Research. – 1991. – V. 258, №2. – P. 191–205.
27. Lampe, N. The long term impact of ionising radiation on living systems / N. Lampe. – Dissertation. – Université Clermont Auvergne, 2017.
28. Saunders, R.D. Biological effects of electromagnetic fields and radiation / R.D. Saunders, Z.J. Sienkiewicz, C.I. Kowalczuk // Journal of Radiological Protection. – 1991. – V. 11, №1. – P. 27.
29. Cornacchia, S. Radiation protection in non-ionizing and ionizing body composition assessment procedures / S. Cornacchia et al. // Quantitative Imaging in Medicine and Surgery. – 2020. – V. 10, №8. – P. 1723.
30. Klyuchko, O.M. Radiation phenomena: natural sources, mechanisms and protection / O.M. Klyuchko, G.V. Lizunov, P.V. Beloshitsky // Biotechnologia Acta. – 2023. – V. 16, №3. – P. 24–44.
31. Syroeshkin, A.V. Possible mechanisms of relations between the thermal neutrons field and biosphere / A.V. Syroeshkin, I. V. Tarabrina, M. A.

Morozova, A. V. Marukhlenko, I. A. Zlatskiy, M. P. Makarova // The Scientific World Journal. – 2020. – P. 2175296.

32. Heberle, F.A. Biomembranes research using thermal and cold neutrons / F.A. Heberle, D.A.A. Myles, J. Katsaras // Chemistry and Physics of Lipids. – 2015. – V. 192. – P. 41–50.
33. Rinaldi, R. Neutron applications in earth, energy, and environmental sciences / R. Rinaldi, L. Liang, H. Schober // In: Neutron Applications in Earth, Energy and Environmental Sciences. – Springer, 2009. – P. 1–14.
34. Combet, S. An introduction to neutrons for biology / S. Combet // EPJ Web of Conferences. – 2020. – V. 236.
35. Nesvizhevsky, V.V. Interaction of neutrons with nanoparticles / V.V. Nesvizhevsky // Physics of Atomic Nuclei. – 2002. – V. 65, №3. – P. 400–408.
36. Baiocco, G. The origin of neutron biological effectiveness as a function of energy / G. Baiocco et al. // Scientific Reports. – 2016. – V. 6. – P. 34033.
37. Johs, A. New Opportunities for Neutrons in Environmental and Biological Sciences / A. Johs et al. // Frontiers of Environmental Science & Engineering. – 2024. – V. 18, №7. – P. 92.
38. Stenkin, Y.V. Environmental fluxes of thermal neutrons and geophysics / Y.V. Stenkin // Physics of Atomic Nuclei. – 2022. – V. 85, №6. – P. 653–658.
39. Pietropaolo, A. The physical mechanisms of neutron detection / A. Pietropaolo // Contemporary Physics. – 2023. – V. 64, №3. – P. 194–223.
40. Ashkar, R. Neutron scattering in the biological sciences: progress and prospects / R. Ashkar et al. // Biological Crystallography. – 2018. – V. 74, №12. – P. 1129–1168.
41. Varma, S. Coordination numbers of alkali metal ions in aqueous solutions / S. Varma, S.B. Rempe // Biophysical Chemistry. – 2006. – V. 124. – Is. 3. – P. 192–199.
42. Махсудов, Б.И. Эффекты при взаимодействии малых потоков тепловых нейтронов с веществом / Б.И. Махсудов, З. Нигораи // Вестник ТНУ. – 2020. – №1. – С. 94.

43. Махсудов, Б. И. Влияние тепловых нейтронов на излучательные характеристики InGaAs/AlGaAs-гетеролазеров / Б.И. Махсудов // Квантовая электроника. – 2015. – Т. 45. – №. 3. – С. 216-217.
44. Махсудов, Б. И. Нелинейние оптические явления при взаимодействии лазерного излучения с композитами на основе полимер-нематического жидкого кристалла при одноосной деформации / Б.И. Махсудов, И.Х, Файзуллоев, М.Х. Эгамов. – 2022. – С. 104.
45. Акобирова, А.Т. Прочностные свойства нейтронно-облученных эпитаксиальных пленок CdTe / А.Т. Акобирова, Д.И. Бринкевич, С.А. Вабищевич, Н.В. Вабищевич, В.И. Головчук, М.Г. Лукашевич, Б.И. Махсудов // Материалы конференции. – 2018.
46. Махсудов, Б.И. Детектор нейтронов на основе InGaAs/AlGaAs-гетеролазеров / Б.И. Махсудов // Доклады АН РТ. – 2014. – V. 57. – Is. 8. – P. 666–670.
47. Махсудов, Б.И. Влияние облучения тепловыми нейтронами на электрофизические и структурные характеристики CdTe, легированного хлором / Б.И. Махсудов, А.Т. Акобирова, М.Т. Яров, Э.Д. Шаимов // Вестник ТНУ. – 2022. – №1. – P. 116–128.
48. Махсудов, Б.И. Влияние малых потоков тепловых нейтронов на скорость роста бактерий Rhizobium IS TAAS-80TJ / Б.И. Махсудов, К.Х. Салимов, Н. Зайдулло // Доклады АН РТ. – 2020. – V. 63. – Is. 11–12. – P. 723–728.
49. Benedetto, A. From protein and its hydration water dynamics to controlling mechano-elasticity of cellular lipid membranes and cell migration via ionic liquids / A. Benedetto // Biophysical Reviews. – 2020. – V. 12. – Is. 5. – P. 1111–1115.
50. Reisz, J.A. Effects of ionizing radiation on biological molecules – mechanisms of damage and emerging methods of detection / J.A. Reisz, N. Bansal, J. Qian, W. Zhao, C.M. Furdui // Antioxidants & Redox Signaling. – 2014. – V. 21. – Is. 2. – P. 260–292.

51. Nishad, S. Dynamic changes in the proteome of human peripheral blood mononuclear cells with low dose ionizing radiation / S. Nishad, A. Ghosh // Mutation Research. – 2016. – V. 797. – P. 9–20.
52. Prakash, J. Thermal radiation effects on electroosmosis modulated peristaltic transport of ionic nanoliquids in biomicrofluidics channel / J. Prakash, A. Sharma, D. Tripathi // Journal of Molecular Liquids. – 2018. – V. 249. – P. 843–855.
53. Likhtenshtein, G.I. Hydration of Cells and Tissues / G.I. Likhtenshtein // In: Biological Water: Physicochemical Aspects. – 2021. – P. 439–479.
54. Laiakis, E.C. Metabolic dysregulation after neutron exposures expected from an improvised nuclear device / E.C. Laiakis et al. // Radiation Research. – 2017. – V. 188. – Is. 1. – P. 21–34.
55. Khan, A.R. Nuclear magnetic resonance spectroscopy-based metabonomic investigation of biochemical effects in serum of γ-irradiated mice / A.R. Khan et al. // Int. J. Radiat. Biol. – 2011. – V. 87. – Is. 1. – P. 91–97.
56. Pannkuk, E.L. Lipidomic signatures of nonhuman primates with radiation-induced hematopoietic syndrome / E.L. Pannkuk et al. // Scientific Reports. – 2017. – V. 7. – Article 9777.
57. Pannkuk, E.L. Host microbiome depletion attenuates biofluid metabolite responses following radiation exposure / E.L. Pannkuk et al. // PLOS ONE. – 2024. – V. 19. – Is. 5. – e0300883.
58. Pannkuk, E.L. A lipidomic and metabolomic serum signature from nonhuman primates exposed to ionizing radiation / E.L. Pannkuk et al. // Metabolomics. – 2016. – V. 12. – Article 80.
59. Bhowmik, A. Medical Imaging of the Human Body Fluids: Principles and Diagnostics / A. Bhowmik, M. Singh, R. Singh // In: Biofluid Dynamics of Human Body Systems. – 2025. – P. 621–705.
60. Basu, D. Overview of blood components and their preparation / R.Kulkarni //Indian journal of anaesthesia. – 2014. – Т. 58. – №. 5. – P. 529.

61. Subedi, P. Ionizing radiation protein biomarkers in normal tissue and their correlation to radiosensitivity: a systematic review / Gomolka M., Moertl S., Dietz, A. //Journal of Personalized Medicine. – 2021. – Т. 11. – №. 2. – С. 140.
62. Batra, J. Blood components and its usage: A clinical insight from diagnostic lens / J. Batra et al. // J. Pharm. Negative Results. – 2022. – V. 13. – Is. 6. – P. 1747–1750.
63. Button, L.N. The effects of irradiation on blood components / L.N. Button et al. // Transfusion. – 1981. – V. 21. – Is. 4. – P. 419–426.
64. Saeed, A. Effect of low-dose fast neutrons on the protein components of peripheral blood mononuclear cells of irradiated Wistar rats / A. Saeed, M.N. Murshed, E.A. Al-Shahari // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2020. – V. 27. – Is. 32. – P. 40443–40455.
65. Skinner, B.M. Nuclear morphologies: their diversity and functional relevance / B.M. Skinner, E.E. Johnson // Chromosoma. – 2017. – V. 126. – Is. 2. – P. 195–212.
66. Fischer, D. In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis / D. Fischer et al. // Biomaterials. – 2003. – V. 24. – Is. 7. – P. 1121–1131.
67. Ogris, M. PEGylated DNA/transferrin–PEI complexes: reduced interaction with blood components / M. Ogris et al. // Gene Therapy. – 1999. – V. 6. – Is. 4. – P. 595–605.
68. Ogawa, S. Functional brain mapping by BOLD MRI: comparison of signal with biophysical model / S. Ogawa et al. // Biophysical Journal. – 1993. – V. 64. – Is. 3. – P. 803–812.
69. Moroff, G. The irradiation of blood and blood components to prevent GVHD: technical issues and guidelines / G. Moroff, N.L.C. Luban // Transfusion Medicine Reviews. – 1997. – V. 11. – Is. 1. – P. 15–26.
70. Asai, T. Guidelines for irradiation of blood and blood components… / T. Asai et al. // Transfusion Medicine. – 2000. – V. 10. – Is. 4. – P. 315–320.

71. Jacobs, G.P. A review on the effects of ionizing radiation on blood and blood components / G.P. Jacobs // Radiation Physics and Chemistry. – 1998. – V. 53. – Is. 5. – P. 511–523.
72. Przepiorka, D. Use of irradiated blood components: practice parameter / D. Przepiorka et al. // Am. J. Clin. Pathol. – 1996. – V. 106. – Is. 1. – P. 6–12.
73. Mintz, P.D. Irradiation eradication and pathogen reduction: ceasing cesium irradiation / P.D. Mintz, G. Wehrli // Bone Marrow Transplantation. – 2009. – V. 44. – Is. 4. – P. 205–211.
74. Zalesskaya, G.A. Effect of intravenous laser irradiation on the molecular structure of blood / G.A. Zalesskaya, E.G. Sambor, A.V. Kuchinskii // J. Applied Spectroscopy. – 2006. – V. 73. – Is. 1. – P. 115–122.
75. Davey, R.J. Transfusion-associated GVHD and irradiation of blood components / R.J. Davey // Immunological Investigations. – 1995. – V. 24. – Is. 1–2. – P. 431–434.
76. Basu, D. Overview of blood components and their preparation / D. Basu, R. Kulkarni // Indian Journal of Anaesthesia. – 2014. – V. 58. – Is. 5. – P. 529–537.
77. Davis, A.M. X-irradiation and gamma-irradiation inactivate lymphocytes in blood components / A.M. Davis et al. // Transfusion. – 2021. – V. 61. – Is. 11. – P. 3081–3086.
78. Comenzo, R.L. Irradiated components / R.L. Comenzo, D.L. Wuest // In: Handbook of Transfusion Medicine. – 2001. – P. 137–141.
79. Bellairs, G.R. Metabolic effects in irradiated and nonirradiated RBC components / G.R. Bellairs et al. // Afr. J. Lab. Medicine. – 2018. – V. 7. – Is. 1. – P. 1–9.
80. Erkal, H.Ş. The effects of irradiation on the blood dynamics / H.Ş. Erkal, Y. Karakoç, M. Serin // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2009. – V. 41. – Is. 4. – P. 263–267.
81. Marks, D.C. X- and gamma-irradiation have similar effects on stored red cells / D.C. Marks et al. // Transfusion. – 2021. – V. 61. – Is. 11. – P. 3214–3223.

82. Francis, R.O. Irradiation of blood products / R.O. Francis // In: Transfusion Medicine and Hemostasis. – 2025. – P. 229–232.
83. Гусаров, И.И. О защитных эффектах действия малых доз ионизирующего излучения: обзор / И.И. Гусаров, С.И. Иванов // АНРИ. – 2001. – № 4. – С. 8–17.
84. Кузин, А.М. Природный радиоактивный фон и его значение для биосферы Земли. – М.: Наука, 1991. – 117 с.
85. Кузин, А.М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. – М.: Наука, 1995. – 158 с.
86. Hichey, R.I. Radiation hormesis, public health and public policy: commentary / R.I. Hichey, E.J. Bowers, R.C. Celland // Health Phys. – 1983. – V. 44. – № 3. – P. 207–219.
87. Luckey, T.D. Physiological benefits from low levels of ionizing radiation / T.D. Luckey // Health Phys. – 1982. – V. 43. – № 6. – P. 771–789.
88. Planel, H. Influence on cell proliferation of background radiation or exposure to very low, chronic γ-radiation / H. Planel, J.P. Soleilhavoup, R. Tixador et al. // Health Phys. – 1987. – V. 52. – № 5. – P. 517–578.
89. Wachsmann, F. Atemwegs- und Linden in der Pneumologie / F. Wachsmann // Atemwegs- und Lungenkrankh. – 1989. – Bd. 15. – № 1. – S. 25–31.
90. Антошина Н.Н., Растилович В.Г. Колебательные спектры многоатомных молекул. – М.: Наука, 1968. – 283 с.
91. Беллами Л.Ю. Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул. – М.: Мир, 1971. – 230 с.
92. Грибов Л.А. Введение в теорию и расчет колебательных спектров многоатомных молекул. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1965.
93. Кесслер И. Методы инфракрасной спектроскопии в химическом анализе. – М., 1964. – 328 с.
94. Кисловский Л.Д. О стабилизации активных комплексов в додектраэдрических структурах воды: физико-химический и

биологический аспект проблемы / Л.Д. Кисловский // В сб. «Структура и роль воды в живом организме». – Л., 1966. – С. 171–178.

95. Кросс, А. Введение в практическую инфракрасную спектроскопию. – М., 1961. – 326 с.

96. Накамото, К. ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений / К. Накамото; пер. с англ. – М.: Мир, 1991.

97. Наканиси, К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир, 1965.

98. Чиргадзе, Ю.Н. Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков. – М.: Медицина, 1965.

99. Шеуджен, М.Б. Инфракрасная спектроскопия слезной жидкости при проникающих ранениях глазного яблока: дис. … канд. мед. наук: 14.00.08, 03.01.04 / Шеуджен Мурат Байзетович. – М., 2009. – 244 с.

100. Шляпочников, В.А. Колебательные спектры алифатических нитросоединений. – М., 1989. – 124 с.

101. Chatake, T. Hydration in proteins observed by high-resolution neutron crystallography // Proteins. – 2003. – Vol. 50, № 3. – P. 516–523.

102. Franck, P. Applications of infrared spectroscopy to medical biology / P. Franck // Cell. Mol. Biol. – 1998. – Vol. 44, № 2. – P. 273–275.

103. Бутавин, Никита Юрьевич. Влияние эндо-и экзогенных факторов на инфракрасный спектр сыворотки крови подростков. Diss. Тверской государственный университет. – 2014. – С. 46-47.

104. Horecker, B.L. The absorption spectra of haemoglobin and its derivatives in the visible and near infrared regions / B.L. Horecker // J. Biol. Chem. – 1943. – Vol. 148, № 1. – P. 173-183.

105. Oka, T. Estimation of infrared spectrophotometry of calcium oxalate dehydrate to calcium oxalate monohydrate ratio / T. Oka, T. Koide, T. Sonda // J. Urol. – 1985. – Vol. 134. – P. 813–817.

106. Вербелович, В.П. Инфракрасная спектроскопия биологических мембран. – Алма-Ата: Наука, 1977. – 128 с.

107. Мкрян, Н.Г., Мелик-Оганджанян Л.Г., Макарян Ш.А. Исследование плазмы и эритроцитов больных миелопролиферативными заболеваниями крови методом ИК-спектроскопии с Фурье-преобразованием // Биол. журн. Армении. – 2007. – № 3–4 (59). – С. 203.

108. Майчук, Ю.Ф. Аллергические заболевания глаз. – М.: Медицина, 1983. – 223 с.

109. Медведев, В.В., Волчек Ю.З. Клиническая лабораторная диагностика: справочник для врачей / Под ред. В.А. Яковлева. – СПб.: Гиппократ, 2006. – 360 с.

110. Семенов, Н.В. Биохимические компоненты и константы жидких сред и тканей человека. – М.: Медицина, 1971. – 151 с.

111. Митчелл, Дж., Смит Д. Акваметрия / пер. с англ. – М., 1980. – 600 с.

112. Bergqvist, S. Heat capacity effects of water molecules and ions at a protein–DNA interface / S. Bergqvist // J. Mol. Biol. – 2004. – Vol. 336, № 4. – P. 829–842.

113. Chapman, D. Infrared spectra and the chain organization of erythrocyte membranes / D. Chapman, U. Kamat, R. Lereine // Science. – 1968. – Vol. 160, № 3825. – P. 314–316.

114. Franck, P. Applications of infrared spectroscopy to medical biology / P. Franck // Cell. Mol. Biol. – 1998. – Vol. 44, № 2. – P. 273–275.

115. Клюев, Д.А. Особенности ИК-спектров плазмы крови больных с сосудистыми осложнениями сахарного диабета II типа / Д.А. Клюев, В.Б. Молотов-Лучанский, Л.Е. Муравлева // Материалы межвуз. науч. конф. «Современные проблемы медицины и биологии». – Караганда, 2007. – С. 32–34.

116. Brockhayse, R. Lactoferrin and the protective function of the lacrimal fluid / R. Brockhayse // Ophthalmologica. – 1976. – Vol. 173, № 4. – P. 268–210.

117. Дерягина, Б.В. Вода в дисперсных системах. – М.: Химия, 1989. – 289 с.

118. Полянская, Н.К. Тактика и методы лечения больных с тяжелыми деструктивными заболеваниями и травмами роговицы: автореф. дис. … д-ра мед. наук: 14.00.08. – Самара, 2008. – 44 с.

119. Roy, R. Infrared fluorescent detection of D1S80 alleles / R. Roy // Forensic Sci. Int. – 1997. – V. 87, № 1. – P. 63–71.

120. Брейдо, В.В. Перекисное окисление липидов и повреждение печени при острой алкогольной интоксикации // Вопросы наркологии. – 1991. – № 2. – С. 2–4.

121. Садов, А.К. Использование инфракрасной спектрофотометрии крови у больных с неспецифическими гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры как диагностического метода / А.К. Садов и др. // Вопросы частной хирургии и онкологии. – Тверь, 1996. – С. 35–37.

122. Marcovich, R.J. Introduction to Fourier transform infrared spectroscopy and applications in the pharmaceutical sciences / R.J. Marcovich // Pharmacol. Res. – 1991. – Vol. 8, № 6. – P. 663–675.

123. Van Balen, G.P. Liposome/water lipophilicity: methods, information content, and pharmaceutical applications / G.P. van Balen // Med. Res. Rev. – 2004. – Vol. 24, № 3. – P. 299–324.

124. Каргаполов, А.В. Использование ИК-спектроскопии в медицине, экологии и фармакологии. – Тверь, 2003. – 216 с.

125. Oki, J. Survey of neurosis and psychosomatic diseases among children in hospitals and schools in Japan / J. Oki, T. Eto, Z. Yamagata // Jpn. J. Pediatr. Soc. – 2001. – № 105. – P. 1317–1323.

126. Волобуева, О.Г. Использование биопрепаратов и регуляторов роста в повышении эффективности бобово-ризобиального симбиоза / О.Г. Волобуева // Доклады ТСХА. - М.: МСХА, Вып. 282. – Ч. 1. - 2010. – С. 707-710.

127. Федотов, А. П. О влиянии таблетирования с бромидом калия на инфракрасные спектры поглощения индометацина / А. П. Федотов, Т. П.

Шахтшнейдер, Ю. А. Часалов, Е. В. Суров // Химико-фармацевтический журнал. - 2009. - Т. 43. - № 1. - С. 50-52.

128. Нигораи З. Влияние малых потоков тепловых нейтронов на биологическую активность и спектральные характеристики бактерий Rhizobium phaseoli is TAAS-80TJ и bacillus megaterium var. Phosphaticum. – Д., 2023, - С. 125.

129. Волобуева, О.Г. Роль ростовых веществ в формировании бобово-ризобиального симбиоза /О.Г.Волобуева // Продукционный процесс растений и его регуляция. Сборник статей. Орел, - 2014. – С.275-278.

130. Makhsudov, B.I. Optimization optoelectronic properties $Zn_xCd_{1-x}Te$ system for solar cell application: Theoretical and experimental study / B.I Makhsudov, D.D Nematov, Kh.T. Kholmurodov, M.T. Yarov// Biointerface Research in Applied Chemistry. – 2023. – V. 13, – Issue 1, 90.

131. Makhsudov, B.I. Combined X-ray Diffraction Analysis and Quantum Chemical Interpretation of the Effect of Thermal Neutrons on the Geometry and Electronic Properties of CdTe / B.I. Makhsudov, D. Nematov, M. Yarov // J. Mod. Nanotechnology. – 2024. – V. 4. – Iss. 4. DOI:10.53964/jmn.2024004.

132. Ходизода, М. Х. Квантово-химическое исследование самоассоциации молекул 1, 2, 4-триазол-тиол-5/ М.Х. Ходизода, М.Х. Матробиён, З.З. Исломов, С. Давлатмамадова// – 2025. – т. 68. – №. 11-12.

133. Бутырская, Е.В. Компьютерная химия: основы теории и работа с программами Gaussian, Gauss View / Е.В. Бутырская // М.: СОЛОН-Пресс, 2011.-224 с.

134. Foresman, J.B. Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods: A Guide to Using Gaussian / J.B. Foresman, J.M. Frisch // Pittsburgh: Gaussian Inc, 1993.-PP.250.

135. Frisch V, Trucks G.W., Schiegel H.B. Gaussian 03. Revision B.03, Gaussian Inc / V. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schiegel // Pittsburgh, 2003.-P.302.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в научных журналах, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан

[1-А] **Матробиён, М.Х.** Исследование воздействия внешних факторов на сложные биологические соединения методом ИК спектроскопии / Б.И. Махсудов, Х. Хабибуллоев, М.Х. Матробиён // Вестник ТНУ. Серия естественных наук. – 2025, –№3, – С. 91-107.

[2-А] **Матробиён, М.Х**. Влияние нейтронного облучения на ИК спектры сыворотки крови человека / М.Х. Матробиён, Б.И. Махсудов, Х. Хабибуллоев, Н. Зайдулло // Международный научно-исследовательский журнал, 5(155). Санкт-Петербург, 2025. DOI:10.60797/IRJ.2025.155.66.

[3-А] **Матробиён, М.Х**. Влияние нейтронного облучения на сдвиг частот ИК-полос поглощения сыворотки крови человека / Б.И. Махсудов, Х. Хабибуллоев, М.Х. Матробиён // Доклады НАНТ. – 2025. – Т. 68. – №8. – С. 770-777.

[4-А] **Матробиён, М.Х**. Влияние малых потоков тепловых нейтронов на свойства сложных биологических объектов / Б.И. Махсудов, М.Х. Матробиён // Вестник ТНУ. Серия естественных наук. – 2026, –№2. С. 124–133.

[5-А] **Matrobiyon, M. Kh**. Manifestations of Radiation Hormesis in Biological Fluids Exposed to Low-Flux Neutron Irradiation: Insights from IR Spectroscopy and Biochemical Analysis / M.B. Islomzoda, Kh. Khabibulloev, M.M. Khurramzod, D. Nematov // Preprints, 2026, 205495. DOI: 10.20944/preprints202603.2309.v1.

Статьи, опубликованные в других научных журналах

[6-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние малых потоков тепловых нейтронов на интенсивность полос поглощения инфракрасного спектра цельной кровы / Б.И. Махсудов, М.Х. Матробиён // Вестник Московского государственного университета им. М.Ю. Ломоносова в городе Душанбе. Серия естественных наук. – 2023, – Т. 1. – №1 (29), – С. 58-66.

Публикации в материалах научных конференций

[7-А] **Матробиён, М.Х.** Тепловые нейтроны на биологических объектах / Б.И. Махсудов, М.Х. Матробиён // Материалы республиканской научно-теоретической конференции профессорско-преподавательского состава, сотрудников и студентов ТНУ. – Душанбе – 2020. – С. 28.

[8-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние малых потоков тепловых нейтронов на спектральные характеристики цельной крови / Н. Зайдулло, М.Х. Матробиён // Материалы XV международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Современные проблемы и перспективные направления инновационного развития науки». – Душанбе, – 2020. – С. 453.

[9-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние малых потоков тепловых нейтронов на биохимические свойства крови / Б.И. Махсудов, Б.П. Амонов, М.Х. Матробиён // Роль физики в развитии науки: международная конференция. – Душанбе. – 2022. – С. 35-40.

[10-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние малых потоков тепловых нейтронов на интенсивности полоси поглощения инфракрасного спектра цельной крови / Б.И. Махсудов, М.Х. Матробиён // Материалы научно-теоретической конференции преподавателей и сотрудников, докторантов, магистрантов и студентов ТНУ. – Душанбе, 2022. – С. 65-68.

[11-А] **Матробиён, М.Х.** Сравнительный анализ ИК-спектров сыворотки и цельной крови человека / М.Х. Матробиён // Материалы международной научно-практической конференции «Современные проблемы физики и химии полимеров», – Душанбе. – 2023. – С. 162-164.

[12-А] **Матробиён, М.Х.** Изучение влияние малых потоков тепловых нейтронов на цельную кров человека методом инфракрасной спектроскопии / Б.И. Махсудов, М.Х. Матробиён // Труды Международной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы современной физики». – Ташкент, – 2023 г., – Т. 1. – С. 67-68.

[13-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние нейтронного облучения на ИК спектры сыворотки крови человека / Б.И. Махсудов, Х. Хабибуллоев, М.Х. Матробиён //

Материалы республиканской научно-практической конференции «Современные проблемы физики конденсированного состояния». – Худжанж, – 2024. – С. 49-51.

[14-А] **Матробиён, М.Х.** Изменение составляющих отдельных компонентов сыворотки крови человека при воздействии малого потока тепловых нейтронов / Б.И. Махсудов, Х. Хабибуллоев, М.Х. Матробиён // Материалы IX Международной научной конференции «Современные проблемы физики». – Душанбе, 2024, – С. 266-269.

[15-А] **Матробиён, М.Х.** Влияние тепловых нейтронов на ИК-спектры сыворотки куриного яйца / Б.И. Махсуд, Х. Хабибуллоев, М.Х. Матробиён, А. Алиев // Материалы международной научно - практической конференции «Проблемы и перспективы развития физических наук». – Худжанж, – 2025. – С. 31-36.

[16-А] **Матробиён, М.Х.** Таъсири сели ками нейтронҳои ҳароратӣ ба ғеҷиши тасмаи фурӯбурди спектри инфрасурхи сафедаи тухми мурғ / М.Х. Матробиён // Труды международной научно-практической конференции «Современные проблемы физики полупроводников и диэлектриков». – Душанбе. – 2025, – С. 86-88.

[17-А] **Matroiyon, M.Kh.** Influence of thermal neutrons on the shift of IR absorption bands of chicken egg serum / B.I. Makhsud, Kh. Habibulloev, M. Kh. Matrobiyon // Материалы Международной научной конференции «Состояние и перспективы развития возобновляемой энергетики в Таджикистане», – Toshkent, – 2025. – P. 121-122.

[18-А] **Матробиён, М.Х.** Таъсири нейтронҳои ҳароратӣ ба спектри инфрасурхи сафедаи тухми мурғ / М.Х. Матробиён, А. Алиев // Материалы республиканской научно-теоретической конференции профессорско-преподавательского состава, сотрудников, соискателей и докторантов таджикского национального университета, – Душанбе. – 2025, – Т. 1, – С. 161-170.

[19-А] **Матробиён, М.Х.** Квантово-механические влияния малых потоков тепловых нейтронов на пепидные связи белков сыворотки крови // Материалы международной научно-практической конференции на тему «Состояние и перспективы развития современной физики» – Душанбе. – 2026. – С. 165-168.

[20-А] **Матробиён, М.Х.** Исследование воздействия тепловых нейтронов и внешних факторов на биологические системы методом ИК-Фурье спектроскопии // Материалы международной научно-практической конференции на тему «Состояние и перспективы развития современной физики» – Душанбе. – 2026. – С. 202-206.