

Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ
В. И. ИВАНОВ · В. И. КОРОГОДИН



ПРИМЕНЕНИЕ
ПРИНЦИПА
ПОПАДАНИЯ
В РАДИОБИОЛОГИИ

АТОМИЗДАТ · 1968

Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ,
В. И. ИВАНОВ, В. И. КОРОГОДИН

ПРИМЕНЕНИЕ
ПРИНЦИПА
ПОПАДАНИЯ
В РАДИОБИОЛОГИИ



АТОМИЗДАТ МОСКВА 1968

57
Т 41

616.0120

60659

УДК 577.3:539.12.04



Н. В. Тимофеев-Ресовский, В. И. Иванов, В. И. Корогодин. Применение принципа попадания в радиобиологии. М., Атомиздат, 1968.

В книге кратко излагается история применения принципа попадания в радиобиологии и на избранных примерах иллюстрируется это применение к анализу опытных данных из нескольких различных областей биологического действия ионизирующих излучений: вызывание точковых мутаций и крупных хромосомных перестроек, задержка клеточного деления и гибель (или инактивация) клеток, восстановление клеток от лучевых повреждений и некоторые аспекты лучевой патологии многоклеточных организмов.

Задача книги: показать общее значение принципа попадания и связанных с ним положений и понятий в качестве исходной предпосылки для анализа экспериментальных данных из самых разнообразных разделов радиобиологии, а также плодотворность этого принципа при интерпретации не только элементарных, но и комплексных радиобиологических реакций. Именно в этом отношении настоящая книга и отличается, пожалуй, больше всего от публиковавшихся ранее сводок и монографий по количественной радиобиологии, где основное внимание было обращено на анализ только элементарных радиобиологических реакций.

В связи с тем, что радиобиология изобилует в настоящее время частными теориями и гипотезами, сделанная в книге попытка подойти к различным аспектам радиобиологии с единой точки зрения несомненно представит интерес для радиобиологов и биофизиков весьма широкого профиля. Кроме того, книга построена таким образом, что она логически последовательно, достаточно строго и в то же время без сложных математических выкладок вводит читателя в круг основных идей и представлений современной радиобиологии.

Таблиц 16, библиография — 225 наименований, рисунков 60.

ПОСВЯЩАЕТСЯ ПАМЯТИ
ДУГЛАСА ЭДУАРДА ЛИ
II
(1910—1947)

Все зависит от точки зрения

Павел Зырянов

ПРЕДИСЛОВИЕ

Основная цель и задача настоящей книги — сформулировать нашу точку зрения на применение принципа попадания в современной радиобиологии. Принцип попадания в его применении для анализа биологических реакций на облучение был сформулирован более 45 лет назад. На протяжении 30-х и 40-х годов появилось несколько общих работ и сводок, посвященных применению принципа попадания в различных разделах радиобиологии, главным образом в радиационной генетике и радиационной цитологии. Одной из последних сводок является вышедшая в 1946 г. книга замечательного, к сожалению рано погибшего, английского физика и биофизика Дугласа Эдуарда Ли «Действие радиации на живые клетки»¹. Памяти этого ученого мы и посвящаем свою книгу.

Примерно в течение 20 лет сводки по применению принципа попадания в радиобиологии, или по его значению для анализа различных радиобиологических данных, не появлялись. Вместе с тем в литературе неоднократно высказывалось мнение о том, что принцип попадания утратил свое эвристическое значение в анализе биологических эффектов облучения. Может быть, это связано с появлением за последние десятилетия ряда экспериментальных данных, которые, совершенно естественно, не могли быть приняты в расчет и проана-

¹ D. E. Lea. Action of Radiations on Living Cells. Cambridge, University Press, 1946, (Д. Ли. Действие радиации на живые клетки. М., Госатомиздат, 1963.)

лизированы авторами старых сводок по принципам попадания и мишени.

Предлагаемая книга отнюдь не является обзором или сводкой всех применений принципа попадания в радиобиологии; ее задача, как уже отмечалось, состоит в изложении точки зрения авторов на плодотворные применения принципа попадания и сопутствующих ему понятий при анализе данных экспериментальных исследований некоторых областей современной радиобиологии.

Авторы

Обнинск,
Институт медицинской радиологии АМН СССР,
октябрь 1967 г.

ВВЕДЕНИЕ

Прошло около семидесяти лет со времени первых радиобиологических опытов. За этот срок радиобиология выросла в самостоятельную дисциплину. Мы сознательно говорим «дисциплину», а не «науку», так как в широком смысле радиобиология объединяет части целого ряда научных разделов биологии, имеет дело с самыми различными объектами (вирусами, фагами, одноклеточными, культурами клеток и тканей, многоклеточными индивидами, популяциями и биоценозами), использует различные методы и решает самые разнообразные задачи. Объединяющим моментом является применение в качестве воздействующего фактора в разнообразнейших экспериментах ионизирующих излучений.

Как известно, радиобиология начала развиваться особенно бурно с наступлением «атомной эры». Накануне этого расцвета в радиобиологии наряду с наметившимся тогда (отчасти и развившимся) разнообразием объектов, методов и задач экспериментальных работ сформировалось своего рода фундаментальное теоретическое направление, посвященное анализу исходных (пусковых) физических механизмов, которые должны иметь место при любых воздействиях ионизирующих излучений на живые организмы. Основой этого направления послужила точная формулировка и дальнейшее применение принципа попадания. Развитие этого направления привело к более ясному пониманию того, что может и должно происходить при воздействии ионизирующих излучений на живые системы.

Может быть, как раз вследствие необычайного увеличения числа исследований по радиобиологии и широкого применения ионизирующих излучений в разнообразнейших работах с самыми различными объектами за последнюю четверть века возник значительный раз-

нобой в основных теоретических интерпретациях биологических действий ионизирующих излучений, нарушивший достигнутые к концу сороковых годов стройность и единообразие в представлениях об исходных физических механизмах, ведущих к формированию различных наблюдаемых конечных радиобиологических эффектов. Такая ситуация привела к попыткам отрицания значения принципа попадания в радиобиологии, к противопоставлению принципу попадания различных других гипотез и точек зрения, а подчас даже к утверждениям о порочности принципа попадания и связанного с ним принципа (и теории) мишени.

В создавшемся сейчас положении наиболее характерно, пожалуй, возникновение большого числа частных гипотез, с помощью которых описываются и трактуются результаты исследований тех или иных конкретных радиобиологических реакций. Против этого, в общей форме, ничего нельзя возразить. В целом ряде случаев, однако, допускается серьезная методологическая ошибка: противопоставляются в качестве альтернативных утверждения и взгляды различных объемов и значимости. В определенной мере в связи с этим частные принципы, предназначенные для объяснения конкретных радиобиологических реакций, возводятся в ранг всеобщих теорий, долженствующих объяснить механизмы любого биологического действия ионизирующих излучений. Обычно при этом забывают о фундаментальном значении самой физической природы и свойств ионизирующих излучений, а также об очевидной неоднородности любого биологического материала для создания представлений о первичных механизмах биологического действия этого фактора. Не менее важно и то, что при этом нередко не разграничивают достаточно четко физические пусковые механизмы радиобиологических реакций, с одной стороны, и характер разнообразнейших конечных их проявлений — с другой. Эти обстоятельства создают большие трудности, а подчас и невозможность количественного изучения и интерпретации природы биологических последствий облучения. Эти же методологические ошибки приводят некоторых авторов к отрицанию значения принципа попадания, исходя из соображений и гипотез, лежащих в совершенно иной плоскости, а также к замене представлений о физических пусковых ме-

ханизмах гипотезами, пригодными лишь для объяснения формирования конечных наблюдаемых эффектов.

Нашей задачей является попытка разобраться в создавшейся ситуации и показать место и значение принципа попадания (а также, естественно, связанных с ним принципов мишени и усилителя и представлений о механизмах миграции энергии) в общей радиобиологии. Это, в конечном счете, поможет определить значение применения принципа попадания в качестве исходной гипотезы при анализе ряда сложных биологических реакций на облучение, т. е. поможет найти истинное место и роль в общем эффекте облучения тех разнообразных проявлений его последствий, изучение которых и порождает подчас противопоставляемые одна другой гипотезы и представления.

В дальнейших главах этой небольшой книги мы отнюдь не стремимся дать исчерпывающее изложение принципа попадания и всех его применений в радиобиологии. Мы не даем в ней и критики весьма разнообразных точек зрения и гипотез, противопоставляемых принципу попадания. Мы не собираемся также давать окончательную интерпретацию различных частных радиобиологических феноменов с позиций этого принципа. Наша задача более скромная и в то же время более общая: показать (в аспекте самых общих черт развития радиобиологии) возникновение, точную формулировку и применение принципа попадания на нескольких элементарных радиобиологических реакциях, а также его дальнейшее логическое развитие, связь с принципами мишени и усилителя и современное его состояние. Будет показано значение принципа попадания как основы при интерпретации некоторых более сложных радиобиологических явлений (например, эффекта пострadiационного восстановления), а также бессодержательность противопоставления этого общего принципа любым частным гипотезам. Наконец, будет указано на неизбежные границы (при изучении сложных комплексных биологических реакций на облучение) формального применения принципа попадания для количественного анализа лишь конечных эффектов, а также на значение его и в этих случаях для общей трактовки природы регистрируемых проявлений последствий облучения.

РАЗВИТИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ РАДИОБИОЛОГИИ
И ПЕРВЫЕ ФОРМУЛИРОВКИ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ

В течение первых двух десятилетий (с конца девяностых годов прошлого века) радиобиология развивалась в направлении все большего накопления материала по самым разнообразным биологическим реакциям на облучение. При этом часто наблюдавшиеся реакции либо не учитывались количественно, либо по самой природе своей (комплексные патологические изменения) были мало пригодны для количественного анализа. В то же время, к двадцатым годам нашего века, было уже показано, что ионизирующие излучения (главным образом рентгеновские лучи и отчасти излучения достаточно сильных препаратов радия) могут вызывать и гибель одноклеточных и отдельных соматических клеток, и ненормальности развития при воздействии на разные, особенно на ранние, стадии эмбриогенеза, и проникать в любые органы и ткани многоклеточных, вызывая там разнообразные патологические изменения.

Уже тогда была показана возможность возникновения в результате облучения нескольких особенно интересных реакций. Во-первых, на культурах некоторых одноклеточных и интенсивно делящихся соматических клетках *in vivo* была обнаружена задержка клеточного деления, обычно с последующей волной компенсаторного размножения клеток. Во-вторых, было показано, что рентгеновские лучи, проникая в гонады, стерилизуют облученные индивиды, а также, при неполной стерилизации или при облучении непосредственно гамет, например у иглокожих или земноводных, могут приводить к возникновению аномалий в эмбриогенезе следующего поколения. При этом было обнаружено весьма существенное явление: облучение и спермиев, и яйцеклеток в сходных дозах вызывает примерно одинаковые нарушения эмбриогенеза или летальный эффект.

Отставание количественного анализа действия излучений, помимо указанных выше причин, было обусловлено также и отсутствием достаточно точной и общепринятой не только абсолютной, но и относительной дозиметрии ионизирующих излучений. Лишь с усовершенствованием рентгеновских аппаратов и рентгеновских трубок стало возможно с нужной точностью (при стабильных параметрах работы аппаратуры) давать различные относительные дозы, изменяя либо продолжительность экспозиции, либо расстояние от антикатада. Известную роль сыграло и введение биологической дозиметрии (HED — Hauterythemdososis, или эритемная доза). Не следует забывать, что точное физическое определение дозы ионизирующих излучений стало возможным лишь с введением в 1928—1929 гг. ионизационного метода дозиметрии и международной единицы *рентген*.

К концу двадцатых годов, однако, накопилось уже относительно много материала по гибели или инактивации (утрате способности к дальнейшему размножению) клеток под влиянием различных доз рентгеновских лучей. Особенно большой и тщательный материал был получен на яйцах аскариды Хольтузенем и его учениками [Braun и Holthusen, 1929]. В этих опытах при достаточно точном определении относительных доз обычно получались не слишком крутые S-образные кривые доза — эффект (рис. 1). Естественно, наиболее вдумчивые исследователи стали размышлять о природе этих кривых доза — эффект и о причинах, обуславливающих ту или иную их форму. Хольтузен обратил внимание на то, что S-образные кривые доза — эффект можно рассматривать в качестве преобразования определенных кривых распределения (близких к нормальным) биологической изменчивости резистентности клеток по отношению к облучению. Такую точку зрения на кривые доза — эффект (или концентрация — эффект) уже высказывали некоторые представители экспериментальной фармакологии, изучавшие действие ядов на клетки или мелкие многоклеточные организмы.

В радиобиологии в двадцатые годы начал усиленно развиваться тот ее раздел, в котором занимались точным количественным изучением действия рентгеновских лучей на различные клеточные популяции (культуры

одноклеточных организмов или гамет). В этом разделе радиобиологии ведущей стала идея о связи формы кривых доза — эффект с определенным типом распределе-

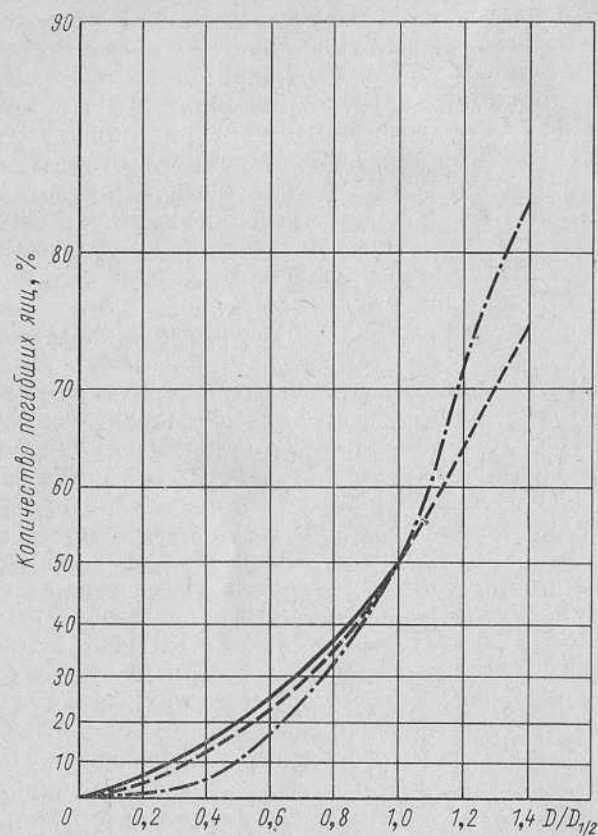


Рис. 1. Гибель яиц аскариды после рентгеновского облучения в аэробных условиях (162 кВ; 1,05 мм Cu) [по: Braun, Holthusen, 1929]. Значения $D_{1/2}$: — 2,0 кр; --- 1,1 кр; - · - · - 1,2 кр.

ния биологической изменчивости радиочувствительности облучаемых клеток или индивидов; наиболее видным исследователем этих проблем в 20-е годы был Хольтузен. При подобных интерпретациях кривых доза — эффект упускалось одно существенное обстоятельство:

абсцисса ряда таких кривых охватывала диапазон доз от нуля до очень высоких, порядка 10 000 *p* (в позже введенных единицах). Дозы, при которых наблюдался еще небольшой процент выживающих клеток, в тысячи, а иногда в десятки тысяч раз превышали те дозы, при которых уже можно было зарегистрировать гибель отдельных особей. Совершенно ясно, что такой огромный диапазон различий в реакциях на облучение разных индивидов одной и той же популяции очень трудно, или даже невозможно, объяснить только случайным распределением биологической изменчивости их радиорезистентности.

Между тем в радиационной физике к этому времени была в первом приближении выяснена природа основных типов ионизирующих излучений и основные черты их взаимодействия с веществом. Было установлено, что природа всех излучений дискретна: электромагнитные колебания с высокой энергией квантов (γ -кванты), проходя через вещество, отдают свою энергию одному или нескольким «вторичным электронам», а эти последние, так же как α -частицы или β -частицы (или катодные лучи), отдают свою энергию путем ионизации или возбуждения атомов вдоль своего пробега в веществе. Таким образом, действие на вещество всех ионизирующих излучений сводится, в конечном счете, к действию быстрых частиц разной энергии и массы (электроны, протоны, α -частицы с разной энергией, зависящей от их происхождения), отдающих свою энергию дискретными порциями (ионизация или возбуждение атомов вдоль их треков). Эти свойства ионизирующих излучений, естественно, должны определять физическую природу их воздействий на облучаемое вещество, в том числе и на живые организмы. Кроме того, расчеты энергий показали, что даже самые высокие дозы ионизирующих излучений, применяемые в радиобиологии, при пересчете, например, в калории представляют собою относительно незначительные величины. Эти чисто физические соображения легли в основу уже тогда высказывавшегося рядом исследователей, а позже (в 30-е годы) точно сформулированного так называемого «парадокса биологического действия ионизирующих излучений»: абсолютно летальная для ряда живых организмов доза сообщает им энергию не больше тепловой энергии, заключенной в

стакане теплой воды, а биологический экстремальный эффект (смерть или грубое патологическое изменение клетки) может быть вызван ничтожной дозой ионизирующего излучения, причем с повышением дозы повышается не столько степень проявления эффекта у отдельных клеток облучаемой популяции, сколько количество (доля) клеток, реагирующих данным образом, т. е. возрастает *вероятность проявления* данной реакции на облучение.

Очень существенный, принципиальный шаг по пути понимания физических основ биологического действия ионизирующих излучений был сделан Дессауэром. Дессауэр был физиком и возглавлял специальную лабораторию медицинской физики. Столкнувшись с проблемой биологических действий ионизирующих излучений, Дессауэр подошел к рассмотрению этой проблемы с учетом физической природы воздействующего фактора. При облучении рентгеновскими лучами или другими ионизирующими излучениями даже при относительно очень высоких дозах мы имеем дело с излучением очень малой объемной плотности, например по сравнению с видимым или ультрафиолетовым светом энергетически эквивалентной дозы. С другой стороны, отдельные дискретные кванты или быстрые частицы обладают по сравнению с квантами света или отдельными молекулами вещества огромной энергией, исчисляемой десятками и сотнями килоэлектронвольт. При объемном микрогеометрическом рассмотрении облучаемого вещества получается, следовательно, такая картина: то тут, то там, далеко друг от друга (по сравнению с межатомными и межмолекулярными расстояниями) проходят частицы, несущие очень большую энергию. Таким образом, несмотря на то, что макрообъем вещества получает относительно небольшую общую сумму энергии, в отдельных микрообъемах, в которых поглощается энергия быстрых частиц, остается относительно много энергии. На основе такой физической картины происходящего в облучаемом веществе Дессауэр [Dessauer, 1922] сформулировал свою гипотезу «точечного тепла» (Punktwärmetheorie). Согласно этой гипотезе, в облучаемом объекте при поглощении относительно небольшой общей энергии в отдельных случайных и редко расположенных микрообъемах оставляются настолько большие порции энергии, что их можно сравнить с микролокальным нагреванием, и они могут произво-

доть почти любые узколокальные изменения в веществе. Так как облучаемое живое вещество (клетки) явно не-гомогенно и состоит, с одной стороны, из относительно безразличных и, с другой стороны, весьма существенных для жизни микрообъемов и структур, а распределение «точечного тепла» является чисто случайным, то мы имеем здесь типичный случай действия принципа попадания; конечный эффект в клетке будет зависеть от случайных попаданий дискретных порций энергии в жизненно существенные микрообъемы внутри клетки. При этом совершенно ясно, что с повышением дозы увеличивается вероятность таких попаданий и, наоборот, при понижении дозы снижается эта вероятность. Из этого, в свою очередь, следует, что любая самая малая доза может с соответственно малой вероятностью (и, следовательно, малой частотой) вызвать экстремальный биологический эффект (например, гибель или инактивацию клетки), но даже при очень высоких дозах могут с малой вероятностью и малой частотой сохраниться отдельные неповрежденные клетки. Это прекрасно иллюстрируется кривой выживания бактерий *Serratia marcescens* после облучения разными дозами рентгеновских лучей (рис. 2).

Конечно, и Дессауэру, и всем последующим физикам и биофизикам, принимавшим участие в развитии применения принципа попадания в радиобиологии, было ясно следующее. Во-первых, формулировка понятия попадания еще решительно ничего не говорит о тех конкретных физических, физико-химических и биохимических процессах, которые происходят в пораженном микрообъеме. Во-вторых, естественно, что непосредственное применение принципа попадания, или гипотезы «точечного тепла», осмыслено лишь в отношении первичных физических «пусковых» механизмов любых возникающих далее в облученном веществе цепей реакций. Следовательно, в экспериментальных ситуациях можно с успехом количественно применять принцип попадания без существенных дополнительных построений лишь в тех случаях, когда мы регистрируем относительно элементарные биологические реакции со сравнительно небольшим затемняющим влиянием сложных химико-физиологических и биохимических процессов, возникающих в качестве косвенных эффектов облучения, основанных на физиологических корреляциях.

Дессауэр сформулировал свои основные идеи в 1921—1922 гг. Сразу же после этого два его молодых

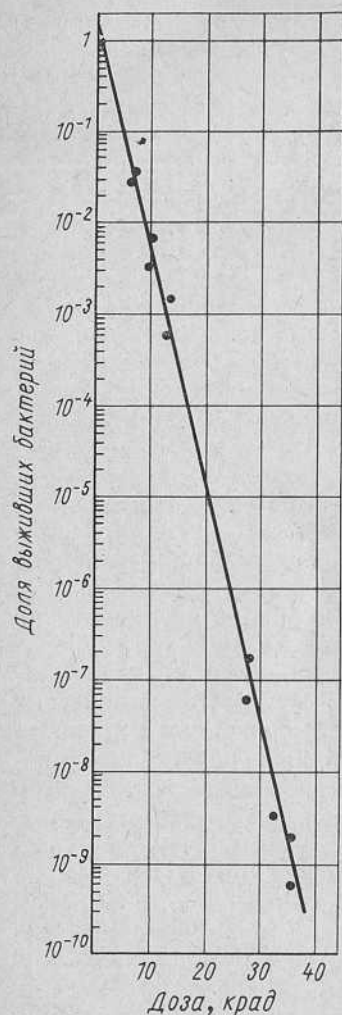


Рис. 2. Кривая выживания *Ser-gatia marcescens* после облучения рентгеновскими лучами (200 кэ) в атмосфере кислорода [Powers, 1962].

сотрудника, Блау и Альтенбургер [Blau, Altenburger, 1922], подвергли применение принципа попадания в радиобиологии математической обработке. Они вывели общую формулу, лежащую в основе расчета кривых доза—эффект, в которую входило число попаданий в определенный «чувствительный объем», необходимое для одной единицы реакции, например гибели одной клетки. Эта формула в принятой сейчас символике выглядит следующим образом:

$$\frac{N^*}{N_0} = 1 - e^{-vD} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(vD)^k}{k!},$$

где N_0 — исходное число особей; N^* — число особей, прореагировавших данным образом; v — чувствительный объем; D — доза облучения; n — число попаданий.

На основании этой формулы Блау и Альтенбургер рассчитали кривые доза — эффект для реакций, обусловливаемых разным числом попаданий в чувствительный объем. Для наглядности сравнения на оси абсцисс были отложены не дозы, а полудозы, т. е. доли дозы, вызывающей 50%-ный эффект, вследствие чего все

кривые пересекаются в одной точке — точке полудозы. На рис. 3, а приведены эти кривые; из рисунка видно, что кривая одного попадания, или, как ее принято называть, одноударная кривая, представляет собой про-

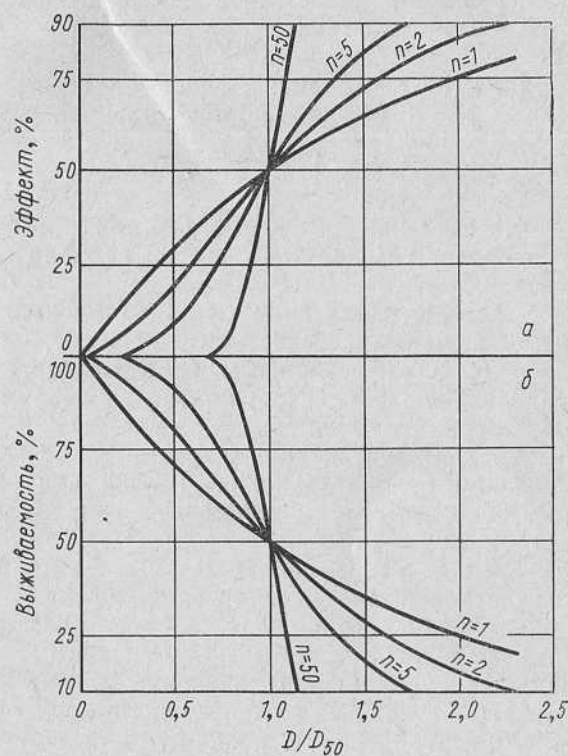


Рис. 3. Семейства кривых доза — эффект (а) и кривых выживания (б), соответствующих различным значениям числа попаданий.

стую кривую насыщения с примерно линейным начальным участком, а с повышением числа попаданий на единицу реакции кривые принимают S-образную форму с усилением крутизны среднего участка. Для случая одного попадания общая формула упрощается:

$$\frac{N^*}{N_0} = 1 - e^{-vD}.$$

При изучении дозовых зависимостей радиобиологических реакций часто удобно пользоваться вместо кривых доза — эффект, отражающих зависимость от дозы облучения относительного числа прореагировавших объектов (см. рис. 3, а), дозовыми кривыми, отражающими относительное число объектов, не реагирующих данным образом. В случае летального эффекта такие кривые называют «кривыми выживания». Кривые такого рода, показанные на рис. 3, б, описываются уравнением типа

$$S = 1 - \frac{N^*}{N_0} (D),$$

где S — относительное число клеток (или организмов), не прореагировавших данным образом на облучение заданной дозой.

Иногда кривые выживания (и подобные им) удобно выражать в полулогарифмическом масштабе, откладывая на оси ординат логарифмы относительного числа непрореагировавших объектов; кривая выживания в таком изображении была приведена на рис. 2.

В дальнейшем изложении зависимость эффекта от дозы облучения будет выражаться графически разными способами, в соответствии с типом регистрируемой реакции и удобством для анализа.

Рассмотренная выше работа Блау и Альтенбургера послужила основой для интерпретаций с точки зрения числа попаданий целого ряда радиобиологических опытов, проводившихся в течение последующего десятилетия. Наиболее существенное значение в тот период имели опыты Глокера с сотрудниками [например, Glocker, Reuss, 1933]. Они облучали семена бобов рентгеновскими лучами различной жесткости и в разных дозах и учитывали гибель проростков. В этих работах Глокер, будучи в то время уже известным физиком и специалистом по рентгеновским лучам и рентгеноструктурному анализу металлов, впервые применил точную (в рентгенах) сравнительную дозиметрию рентгеновских лучей разной жесткости. Кроме того, Глокер пытался, исходя из данных опытов, чисто формально вычислить размеры чувствительного объема; однако он не учитывал того факта, что, облучая многоклеточные эмбрионы бобов, он имел дело с экспериментальными результатами, принципиально непригодными для одно-

60659

значной интерпретации в этом отношении. К сожалению, в дальнейшем в радиобиологии неоднократно пытались чисто формально объяснять количественные результаты радиобиологических опытов, применяя принцип попадания и математический анализ кривых, не считаясь с тем, позволяет ли изучаемая конкретная реакция однозначно интерпретировать результаты с этих позиций.

В двадцатые же годы, независимо от Дессауэра, ряд очень интересных опытов с количественной интерпретацией результатов был проведен в Англии. В 1923 г. была опубликована работа, выполненная Стренджвейзом и Оуклеем [Strangeways, Oakley, 1923], по действию рентгеновских лучей на культуру фибробластов цыпленка. Авторы регистрировали различные морфологические нарушения роста культуры, в том числе патологию клеточного деления при действии различных доз облучения. Точные качественные описания, данные в этой работе, послужили толчком для попыток их интерпретации с количественных позиций, что и было сделано физиком Кроузером. В первой же своей работе Кроузер [Crowther, 1924] сформулировал «теорию попадания» (hit theory), согласно которой регистрируемый эффект может быть обусловлен одним попаданием (или ионизацией) в один чувствительный объем клетки; при этом для данных Стренджвейза и Оуклея им было получено согласие с одноударной кривой доза — эффект. Через два года Кроузер [Crowther, 1926] опубликовал обобщение «теории попадания» для тех случаев, когда регистрируемая единица реакции может быть обусловлена несколькими попаданиями в чувствительный объем. В этой же работе Кроузер привел экспериментальные данные, полученные им в опытах с облучением инфузорий *Colpidium colpoda* разными дозами рентгеновских лучей. Соответствующая кривая доза — эффект (эффект оценивали по гибели инфузорий в течение одного-двух часов после облучения) имела четко выраженную S-образную форму (рис. 4) и, как полагал Кроузер, могла быть использована именно как кривая многоударной реакции (подробнее об этом см. в гл. 6).

«Теория попадания» Кроузера, так же как и «теория точечного тепла» Дессауэра, является не чем иным,

как формулировкой применения принципа попадания для анализа опытных данных. Кроме того, Кроузер попытался конкретизировать понятие попадания, при-

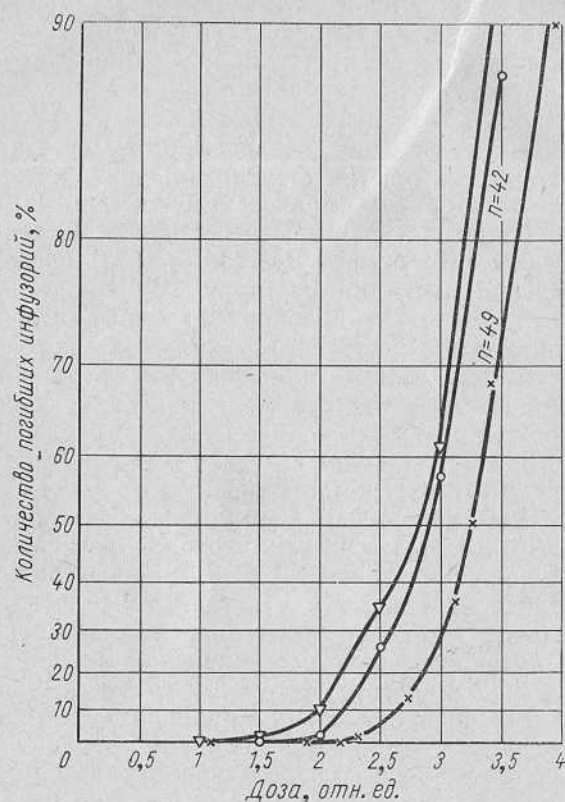


Рис. 4. Кривые доза — эффект для гибели инфузорий *Colpidium colpoda* в результате рентгеновского облучения [Crowther, 1926]. Гибель сразу после облучения (X), через 1 ч (O) и через 2 ч (∇).

няв за таковое возникновение в облучаемом веществе одного акта ионизации, в то время как Дессауэр, а за ним и Холбек с Лакассаном [Holweck, Lacassagne, 1931], изучавшие влияние α -частиц на одноклеточные организмы, попаданием считали прохождение быстрой частицы через чувствительный объем с оставлением в нем довольно неопределенного количества энергии в

виде нескольких или многих ионизированных и возбужденных атомов и молекул. Такая конкретизация понятия попадания позволила Кроузеру впервые попытаться рассчитать (чисто формально) размеры чувствительного объема. Эти размеры оказались сопоставимыми с размерами некоторых реальных микроструктур клетки (например, центриолей или ядрышек). В связи с этим Кроузер полагал, что дальнейшие успехи количественной радиобиологии будут зависеть от выявления тех реальных структур, которые служат чувствительными объемами и размер которых можно рассчитывать путем анализа соответствующих кривых доза — эффект. Эти идеи Кроузера легли в дальнейшем в основу метода радиационной ультрамикрометрии, развиваемого с конца тридцатых годов [Holweck, 1938; Bonet-Maurry, 1942; Zimmer, 1943].

Интересно подчеркнуть, что, экспериментируя с *Colpidium colpoda*, Кроузер использовал не только дозы различной величины, но и различное их фракционирование. При этом он обнаружил, что летальное действие сильно зависит от интервала времени между фракциями и уменьшается с увеличением этих интервалов. Кроузер объяснил это явление с точки зрения возможности пострadiационного восстановления клеток от лучевых повреждений. Это наблюдение Кроузера можно считать одним из первых указаний на возможность существования пострadiационного восстановления клеток, более подробному разбору которого с позиций принципа попадания будет посвящена гл. 5.

С конца 20-х годов стали появляться в печати интересные количественные исследования Холвека [Holweck, 1930] и Холвека с Лакассанем [Holweck, Lacassagne, 1930, 1931, 1931 a] по действию рентгеновских лучей и α -частиц на одноклеточные организмы различных видов. Холвек, будучи физиком, так же как Дессауэр и Кроузер, подошел к объяснению результатов опытов с точки зрения принципа попадания. В большинстве опытов Холвека и Лакассаня были получены одноударные кривые доза — эффект; подобно Кроузеру, Холвек применял и принцип мишени, сопоставляя ее с определенными внутриклеточными органеллами. Но, в отличие от Кроузера, Холвек и Лакассань, как уже отмечалось, считали «попаданием» не

отдельную ионизацию, а прохождение частицы через чувствительный объем, т. е. в их понимании физическое содержание «попадания» было сходно с первоначальными представлениями Дессауэра. Кроме того, Холвек и Лакассань, работая с различными культурами дрожжей [Lacassagne, Holweck, 1930], обнаружили весьма существенное явление. Сравнивая радиочувствительность гаплоидных и диплоидных линий дрожжей, они нашли, что гаплоидные дрожжи значительно чувствительнее к облучению, чем диплоидные. Эти наблюдения послужили в дальнейшем основой многих точных количественных опытов по изучению зависимости радиочувствительности от плоидности клеток. Эти же наблюдения, вместе с целым рядом других радиобиологических наблюдений и соображений, легли в основу классических работ, показавших примат клеточного ядра в определении радиочувствительности живых организмов. К обсуждению этого вопроса мы еще вернемся в гл. 6.

Примерно в то же время, т. е. с конца 20-х годов, появилась серия работ Уайкова, посвященных анализу кривых доза — эффект, полученных при облучении бактерий и дрожжей рентгеновскими и ультрафиолетовыми лучами, с позиций кроузеровской формулировки принципов попадания и мишени [Wyckoff, Luyet, 1931; Wyckoff, 1939]. Работы Уайкова представляли в то время большой интерес в связи с тем, что они проводились на объектах и реакциях, дававших простые одноударные (в случае инактивации бактерий) кривые доза — эффект.

Таким образом, с начала 20-х и до начала 30-х годов в радиобиологии сформировался особый раздел — *количественная радиобиология*. Уже тогда можно было предполагать, что в связи со значительной комплексностью даже относительно простых радиобиологических реакций получить сведения о первичных механизмах таких реакций только на основании данных о конечных регистрируемых эффектах можно лишь в особенно благоприятных для этой цели ситуациях.

Избираемый для таких количественных радиобиологических опытов материал должен удовлетворять следующим требованиям. Для облучения следует использовать совокупность возможно простых одинаковых

биологических объектов, например популяцию или клон одинаковых клеток (тканевых или гамет, или одноклеточных организмов). Такая совокупность облучаемых объектов должна быть достаточно многочисленной, чтобы допускать точную статистическую обработку результатов. На избранном удобном материале необходимо выбрать такую реакцию на лучевое воздействие, которая может легко, однозначно, точно и быстро регистрироваться, позволяя тем самым работать с большим статистическим материалом. Эта реакция должна быть (исходя из разумных общебиологических соображений) возможно более простой и элементарной, не являющейся заведомо конечным результатом взаимодействия многих различных факторов (помимо применяемого в опыте облучения). В случае заведомой гетерогенности причин избранной реакции она должна быть экстремальной и поэтому не должна трансгредировать в заметной степени со сходными реакциями, вызываемыми возможными неконтролируемыми сопутствующими факторами (этому требованию удовлетворяет, например, гибель или инактивация клеток). Идеальной реакцией на облучение была бы такая, про которую по всему контексту имеющихся данных можно было бы утверждать, что она является следствием определенных структурных изменений совершенно определенных внутриклеточных структур или органелл.

В отношении методики экспериментов выяснилось, что, помимо общих требований к «чистоте» опыта, необходимо использовать достаточно точную относительную дозиметрию. Необходимо также не ограничиваться отдельными дозами, а всегда стремиться получать кривые доза — эффект и строить эти кривые на основании достаточного количества дозных точек и в достаточной мере нагружать их статистически. Исходя из элементарных сведений по физике ионизирующих излучений, совершенно ясно, что недопустимо рассуждать о возможных сходствах или различиях в эффективности излучений разной жесткости и быстрых частиц разной массы, не имея в качестве обязательной твердой основы точной абсолютной сравнительной дозиметрии этих излучений в пределах применяемого диапазона жесткости и массы. Несоблюдение каких-либо из методических требований может привести, и неоднократно при-

водило, к длинным и сложным дискуссиям и построению гипотез и точек зрения, оказывавшихся после уточнения методики либо неправильными, либо не имеющими отношения к первичным механизмам радиобиологических реакций.

Результаты опытов, удовлетворяющих в отношении материала и методики вышеупомянутым требованиям, можно количественно интерпретировать с позиций принципа попадания. При этом, однако, нужно помнить следующее. Во-первых, принцип попадания в радиобиологии является не гипотезой или теорией, а именно принципом, т. е. неизбежным отражением самой физической дискретной природы ионизирующих излучений и их взаимодействия с веществом. Во-вторых, закономерно и однозначно принцип попадания можно применять только при анализе первичных пусковых механизмов радиобиологических реакций. Применение принципа попадания в радиобиологии решительно ничего не говорит и не может сказать о природе и этапах формирования наблюдаемых конечных проявлений реакций клеток и организмов на облучение. В-третьих, тесно связанный в плане разумных интерпретаций с принципом попадания принцип мишени также не является требующей доказательства гипотезой или теорией, а лишь неизбежной констатацией по самой природе своей неомогенного строения живых объектов; совершенно очевидно и неизбежно, что «попадание» в разные по структуре и биологическому значению микрообъемы любой живой клетки должно иметь весьма различное значение и совершенно несравнимые по важности последствия для этой клетки. Наконец, уже на основании работ и соображений Дессауэра, Кроузера, Холвека и Уайкова стала очевидной необходимость дальнейшей конкретизации физического содержания понятий попадания и мишени, выявления связанных с событием попадания в мишень физических и физико-химических явлений и механизмов и обсуждения разумных границ применимости этих принципов и путей их использования при анализе природы биологического действия ионизирующих излучений.

НЕКОТОРЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ В РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКЕ

1. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И МУТАЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

За первые два десятилетия нашего века была экспериментально обоснована и сформулирована хромосомная теория наследственности, согласно которой: а) гены, по определению, являются элементарными единицами менделевского расщепления (неделимыми в скрещиваниях) и наследственной изменчивости, локальными участками хромосом (неделимыми, как правило, при кроссинговере) и б) гены в норме (за исключением особых случаев внутривхромосомных перестроек) расположены в хромосомах в постоянной линейной последовательности. Хромосомная теория в этой форме была подтверждена огромным количеством опытов на большом числе генетически достаточно изученных объектов из одноклеточных, растений и животных. Наряду с развитием хромосомной теории наследственности, частично на том же огромном экспериментальном материале, было показано, что у всех живых организмов (подвергавшихся генетическому анализу в достаточно большом масштабе) постоянно протекает в природе процесс спонтанной наследственной изменчивости, т. е. происходит с определенной частотой (относительно небольшой) возникновение спонтанных мутаций.

Хромосомная теория наследственности привела к весьма важным и далеко идущим выводам относительно природы и общего значения генотипа. Во-первых, стало совершенно ясно, что генотип (материально представленный в основном набором хромосом) является, выражаясь современным языком, основной управляющей системой живых организмов и кодом наследственной информации, передаваемым от поколения к поколению. Это выражается, например, в том, что изменения его дискретных элементов, генов, приводит к соответствующим изменениям признаков и свойств организма.

Во-вторых, весь комплекс генетических, цитогенетических, кариологических и цитологических наблюдений привел к заключению, что генотип является определенным образом построенной постоянной внутриклеточной структурой, обладающей способностью к своего рода автокатализу, вернее к конвариантной редупликации (удвоению с сохранением всех возникших структурных изменений). Эта конвариантная редупликация хромосомного набора лежит в основе клеточного деления и приводит к строго идентичному распределению основной управляющей системы между дочерними клетками.

В этой связи стали понятны смысл и значение прецизионнейших и общих для всей живой природы механизмов митоза и мейоза. Ряду исследователей уже давно стало ясно, что привычная в биологии схема (клетка делится потому, что делится ядро, а ядро делится потому, что продольно делятся хромосомы) неверна в последней части: вряд ли можно говорить о «делении» хромосом, правильнее говорить о построении новых хромосом на старой матрице (конвариантная редупликация). Общая идея об автокатализе генов была впервые высказана еще Хагедорнами, а Н. К. Кольцов с 1916 г. стал развивать представления о физико-химической (макромолекулярной или мицеллярной) модели хромосом-матриц, способных осуществлять (естественно, в определенной констелляции внутренних условий клетки и при наличии необходимого «стройматериала») конвариантную редупликацию [Н. К. Кольцов, 1936].

Для интересующей нас проблемы особенно важным было то, что уже в двадцатые годы в принципе были установлены основные черты протекающего спонтанно у всех живых организмов мутационного процесса. Во-первых, выяснилось, что мутации возникают у каждого живого организма с более или менее определенной частотой. Так как генов в генотипах живых организмов относительно много (от тысяч до десятков тысяч, по современным прикидкам), то, несмотря на общее сравнительно большое число возникающих мутаций (от нескольких процентов до нескольких десятков процентов мутантных гамет на поколение), частота мутирования отдельных генов весьма невелика (от со-

тых до десяти тысяч процента). Из общих, в основном эволюционных, соображений относительно высокая стабильность генотипов вполне понятна, так как чрезмерная их лабильность была бы невыгодной, замедляя темпы эволюции вследствие сокращения сроков возможной отборной апробации вновь возникающих форм. Во-вторых, были выяснены общий спектр и характер мутационного процесса. Оказалось, что в качестве мутаций (элементарных наследственных изменений, далее наследующихся по правилам Менделя) могут возникать изменения любых морфологических, физиологических и химических свойств соответствующих организмов, т. е. любые изменения, для которых у данного вида имеются онтогенетические предпосылки и возможности; при этом отклонения от исходной формы могут быть в разных направлениях и разной степени выраженности, от резко патологических и летальных до едва уловимых специальными методами. Из этого следует, что мутационный процесс статистичен и случаен, т. е. вполне соответствует дарвиновскому понятию «неопределенной наследственной изменчивости» и хорошо согласуется с «законом гомологических рядов наследственной изменчивости» Н. И. Вавилова (1935). Случайность и статистичность мутационного процесса следует при этом понимать в том смысле, что характер возникающих изменений признаков и свойств ограничивается лишь онтогенетическими свойствами данного вида; этим же определяется и вавиловский «закон гомологических рядов наследственной изменчивости», согласно которому параллелизм спектров наследственной изменчивости тем более выражен, чем филогенетически ближе сравниваемые по изменчивости виды. Наконец, была выяснена цитогенетическая природа различных мутационных изменений, т. е. характер связи их с той или иной формой изменения генетического аппарата клеток.

Оказалось, что все возникающие мутации можно разбить на четыре больших типа: генные, или точковые мутации, хромосомные мутации, геномные мутации и мутации относительно стабильных внехромосомных структур. Первые три типа схематически изображены на рис. 5. Генные, или точковые, мутации представляют собою изменения определенных отдельных генов или локусов хромосомы, что приводит к появлению нового

аллеля мутирующего гена. Единицей изменения в этом случае является структура одного гена или локуса хромосомы. Хромосомные мутации представляют собой

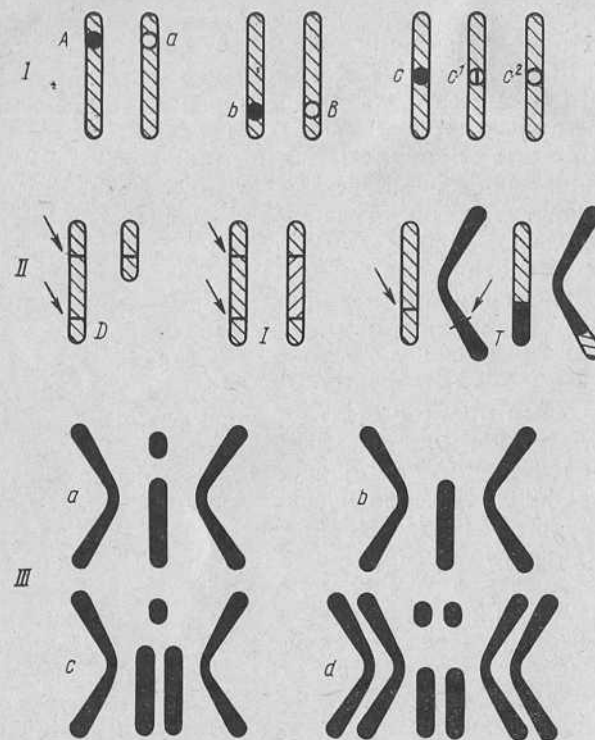


Рис. 5. Схема основных типов мутаций [Timoféeff-Resovsky, Zimmer, 1947]:

I — генные мутации; *a* — рецессивная мутация гена *A*; *B* — доминантная мутация гена *b*; *c*, *c¹*, *c²* — множественные аллели.
II — хромосомные мутации: *D* — делеция; *I* — инверсия; *T* — транслокация. *III* — геномные мутации: *a* — нормальный гаплоидный набор (*n*); *b* и *c* — гетероплоидии (*n* - 1) и (*n* + 1); *d* — полиплоидия (*2n*).

все случаи изменения структуры одной или нескольких хромосом. Возможны четыре основные формы таких изменений: делеции или нехватки, т. е. утери участков хромосом разных размеров; дупликации, или удвоения участков хромосом; инверсии — изменения на противо-

положную последовательности генов в том или ином участке хромосомы; транслокации — обмены участками двумя негомолгичными хромосомами; кроме того, возможны еще любые комбинации и усложнения этих основных форм. Единицей изменения в случае хромосомных мутаций является, таким образом, структура одной или нескольких хромосом. Наконец, геномные мутации распадаются на две группы: гетероплоидии (или анеуплоидии), представляющие собой изменение (увеличение или уменьшение) числа в одной или нескольких (но не во всех) парах хромосом, и полиплоидии, представляющие собой удвоение, утроение и т. д. всего набора хромосом. Единицей изменения в случае геномных мутаций является не отдельный ген и не структура отдельных хромосом, а лишь число хромосом в наборе, т. е. сам геном.

Наряду с описанными тремя типами мутаций, затрагивающими хромосомы и расположенные в них гены, могут возникать столь же случайные структурные изменения некоторых, достаточно стабильных и автономных, конвариантно редулицирующихся внеядерных органелл. Как природа, так и возможные изменения (не обусловленные генотипом) большинства таких структур (митохондрии, рибосомы и т. д.) изучены еще очень слабо. Большой и достаточно точный материал имеется лишь по пластидам (хлоропластам) растительных клеток. Для них доказана возможность их самостоятельной редупликации; хотя, по-видимому, эта редупликация пластид в какой-то мере контролируется генотипом. Целый ряд их признаков, например форма и количество хлорофилла в хлоропластах, также контролируется генотипом, и у растений известна обширная группа генных и хромосомных «хлорофильных» мутаций; но описаны мутационные изменения и самих пластид, ведущие к так называемой «внехромосомной», или «неменделевской», наследственности некоторых случаев пестролистности. Эти случаи указывают на принципиальную возможность возникновения мутаций в некоторых цитоплазматических органеллах; однако достаточно точный экспериментальный материал пока относительно невелик и еще не установлена степень контроля и изменения проявления таких мутаций генотипом.

В связи с оживлением в конце XIX века теоретических исследований в области эволюционного учения и особенно возникновением ряда натурфилософских эволюционных точек зрения, постулировавших «наследование благоприобретенных признаков», еще до развития экспериментальной генетики, построения хромосомной теории наследственности и знакомства с общими чертами мутационного процесса были предприняты попытки экспериментально воздействовать на наследственную изменчивость. Все эти попытки, включая и проводившиеся в начале нашего века опыты на различных объектах, когда пытались воздействовать на наследственную изменчивость самыми различными факторами, не дали никаких результатов. Это было естественным следствием крайне низкого уровня общей методики проводившихся опытов, совершенно неадекватной поставленным задачам. В качестве объектов обычно использовали генетически не изученные виды, материал брали из гетерогенных популяций, численности изучавшихся индивидов были весьма невелики, генетического анализа возникавших изменений не проводили и т. д. В основе же подобных опытов в большинстве случаев лежала идея о «закреплении» в наследственности чисто модификационных изменений, вызывавшихся теми факторами, действию которых подвергался материал.

С построением хромосомной теории наследственности и ознакомлением на достаточно большом материале с общим характером спонтанного мутационного процесса генетикам к 20-м годам нашего века стало ясно, что, с одной стороны, для успешного экспериментального воздействия на процесс наследственной изменчивости необходимо избирать методику, позволяющую воздействующим агентам проникать в ядра гамет и непосредственное окружение генов; с другой же стороны, опыты такого рода надо проводить на генетически достаточно изученном и чистом материале, на очень большом числе особей и с применением генетических и статистических методов, позволяющих точно сравнивать число и характер мутаций, возникающих в контроле и опытных вариантах.

Развитие к этому времени общей радиобиологии и возникновение в ней количественного направления (см. гл. 1), естественно, навело многих генетиков на мысль

о возможности экспериментального воздействия на мутационный процесс таким проникающим в глубь вещества фактором, каким являются рентгеновские и γ -лучи. Поэтому уже в начале 20-х годов независимо друг от друга в ряде лабораторий были начаты опыты по изучению влияния рентгеновских лучей на мутационный процесс у разных видов живых организмов. Уже в 1922 г. Н. К. Кольцов поручил двум своим молодым сотрудникам провести опыты по облучению рентгеновскими лучами дрозофилы. Эти опыты, однако, не дали положительных результатов, так как мало в то время искушенные в экспериментальной генетике Д. Д. Ромашев и Н. В. Тимофеев-Ресовский взяли для исследования генетически совершенно неизученный и гетерогенный материал из природной популяции *Drosophila funebris* и, не владея методиками точного количественного учета мутаций, не смогли получить убедительных различий между контрольным и облученным вариантами. Примерно в то же время Баур поручил сотруднице Штайн провести такие же опыты на растении львиный зев, генетически к тому времени уже изученном. Но и эти опыты, по совершенно другим причинам, тоже не дали положительных результатов. Штайн уже в начале своих опытов получила под влиянием облучения чрезвычайно интересные опухоли у растений, названные ею «радиоморфозами», и затем в течение многих лет она занималась детальным анализом таких радиоморфозов, оставив исходную тему. Более удачными были результаты проведенных Г. А. Надсоном совместно с его сотрудником Г. С. Филипповым опытов по воздействию излучениями радия и рентгеновскими лучами на половой процесс и на появление новых стабильных рас у дрожжей. Результаты этих опытов публиковались в 1920—1925 гг. в отечественной и зарубежной литературе [Надсон Г. А., 1920; Nadson, Philippov, 1925]. Дрожжи в то время были генетически совершенно не изучены, и авторы не проводили генетического анализа возникших новых «радиорас», поэтому эти опыты (хотя мы теперь знаем, что в них впервые было показано возникновение мутаций под влиянием облучения) прошли тогда незамеченными генетиками. Лишь во второй половине 20-х годов некоторые генетики на различных объектах начали систематические серии опытов по изучению дейст-

вия рентгеновских лучей на мутационный процесс. Наиболее обширные и точные опыты на специально созданных для объективного учета возникающих мутаций культурах дрозофилы были проведены Г. Мёллером; он же первый и опубликовал полученные результаты [Muller, 1927, 1928]. Эту дату и следует считать началом развития радиационной генетики.

2. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

Главная, и при том капитальная, заслуга Мёллера заключается в точной и элегантной как теоретической, так и экспериментальной подготовке опытов. Уже раньше Мёллер изучал количественно спонтанный мутационный процесс у *Drosophila melanogaster*, применяя специально созданные для этой цели культуры, например систему балансированных леталей во II хромосоме, метод «CIB» и метод «attached-X». Эти методы позволяют количественно точно, полно и объективно учитывать определенные типы мутаций, например морфологические мутации во II хромосоме, все сцепленные с полом летальные и видимые мутации в X-хромосоме или все видимые, нелетальные мутации в X-хромосоме.

В культуре CIB (рис. 6, а) одна из хромосом самок содержит длинную инверсию С («доминантный запирающий кроссинговера»), рецессивную летальную мутацию I и полудоминантную мутацию Var (V). Благодаря такому сочетанию маркеров можно проследивать в скрещиваниях X-хромосому P-самца (жирная черточка) и объективно учитывать у F_2 -самцов все видимые рецессивные мутации, а также рецессивные летальные мутации в этой хромосоме (бессамцовые F_2 -культуры). Порядок скрещиваний и возникающие летальные комбинации показаны на схеме. В attached-X культурах (см. рис. 6, б) самки имеют набор половых хромосом XXУ, пара X-хромосом сращена проксимальными концами. Поэтому все жизнеспособные F_1 -самцы патроклинны по генам X-хромосомы, что и позволяет учитывать у этих самцов все видимые мутации, возникшие в X-хромосомах P-самцов. Используя такие методы, Мёллер на достаточно большом материале показал, что: а) облучение рентгеновскими лучами может повышать частоту возникающих мутаций на 1—2 порядка

величин по сравнению с необлученным контролем и б) частота возникающих под влиянием облучения мутаций примерно пропорциональна дозе. Результаты первых опытов Мёллера приведены в табл. 1 [Muller, 1927, 1928].

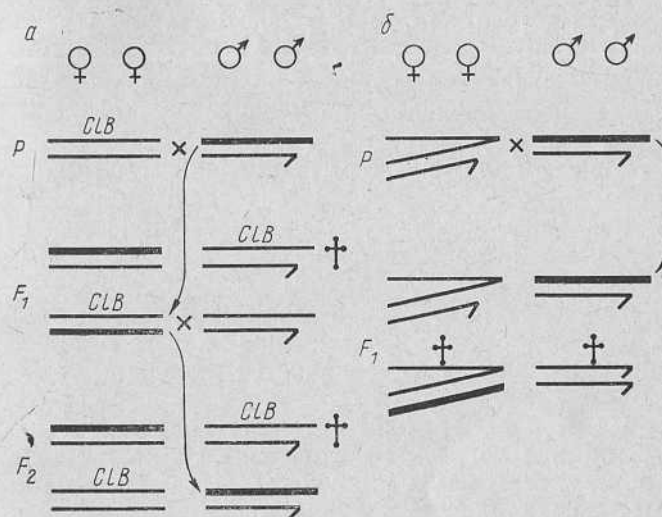


Рис. 6. Схема CLB (а) и attached-X (б)-скрещиваний.

Таблица 1

Результаты опытов Мёллера по вызыванию мутаций у *D. melanogaster* рентгеновским облучением (CLB-метод скрещивания, 50 кв, 5 ма, 1 мм Al; дозы $t_2=24$ мин, $t_4=48$ мин [Muller, 1927])

Вариант опыта	Число фертильных F_1-F_2 культур	Число возникших мутаций		
		летальных	семи-летальных	видимых
Необлученный контроль	198	0	0	0
Доза $t_2(P_1\sigma\sigma)$	676	49	4	1+
Доза $t_4(P_1\sigma\sigma)$	772	89	12	3+

В ближайшие же годы после первых публикаций Мёллера появилось много статей разных авторов, работавших как на нескольких видах дрозофилы, так и на других объектах (одноклеточных, растениях и живот-

ных). Эти исследования полностью подтвердили полученные Мёллером результаты. При этом в разных опытах нередко применяли различные ионизирующие излучения и учитывали разные типы мутаций. Вскоре были опубликованы первые сводки работ по радиационной генетике [Muller, 1930, 1934, 1937; Oliver, 1934; Stubbe, 1937, 1938; Timoféeff-Ressovsky, 1929, 1931, 1934, 1937, 1940]. В этих сводках были сформулированы совершенно определенные общие положения, касающиеся действия ионизирующих излучений на мутационный процесс.

Основные положения радиационной генетики следующие.

1. Все типы ионизирующих излучений, проникающие в гаметы, повышают частоту возникновения мутаций.

2. Ионизирующие излучения вызывают мутации у всех изученных в этом отношении живых организмов, т. е. мутагенный эффект является всеобщим в живой природе.

3. Помимо гамет ионизирующие излучения вызывают мутации и во всех соматических тканях, в которых мутации могут быть обнаружены, а также у одноклеточных организмов.

4. Ионизирующие излучения вызывают все известные типы мутаций — генные, хромосомные и геномные.

5. Качественно спектры спонтанного и индуцированного мутационных процессов, по-видимому, существенно не отличаются друг от друга (хотя для точного установления наличия или отсутствия разницы требуется, естественно, огромный сравнительный материал).

6. Имеются количественные различия в спектрах спонтанного и индуцированного ионизирующими излучениями мутационных процессов, выражающиеся в сдвигах относительных частот разных мутаций и типов мутаций (например, в результате облучения резко повышается относительная частота хромосомных перестроек).

7. Частота возникающих под влиянием ионизирующих излучений мутаций примерно пропорциональна дозам.

Необычайно бурное развитие радиационной генетики (к концу 30-х годов число опубликованных работ зна-

60659
чительно превысило полторы тысячи) было связано прежде всего с тем, что осуществилась давняя мечта биологов: воздействовать экспериментально на наследственную изменчивость живых организмов. Другим же стимулом была относительная легкость и точность опытов, связанная с высокой эффективностью ионизирующих излучений как мутагенного фактора, и возможность относительно легкого получения в не слишком обширных опытах большого числа новых наследственных признаков. Радиационная генетика, подобно радиобиологии в целом, стала поэтому быстро внедряться в самые разнообразные области генетики и смежных дисциплин. Для успешного генетического анализа новых объектов необходимо достаточное количество различных мутантных признаков — их можно получать с помощью облучения. Среди возникающих под влиянием облучения мутаций оказывается много интересных с разных точек зрения признаков и свойств — они могут служить материалом для различного рода генетических, фенотипических и других исследований. Под влиянием облучения возникает особенно много хромосомных разрывов и связанных с ними перестроек хромосом — в результате радиационная генетика резко стимулировала развитие цитогенетики и экспериментальное создание новых кариотипов. Многие спонтанные и индуцированные мутации обуславливают признаки и свойства, могущие быть полезными в практической селекции культурных растений — радиационная генетика стала дополнительным методом в селекции растений. Наконец, то обстоятельство, что гены и хромосомы являются исходными элементарными, дискретными биологическими структурами, а ионизирующие излучения именно по отношению к таким структурам позволяют с успехом применять принципы попадания и мишени, естественно, навело на мысль о возможности биофизического анализа индуцированного ионизирующими излучениями мутационного процесса.

Так в радиационной генетике естественно выделились четыре направления: 1) общегенетическое (применение облучения как метода получения мутаций для различных генетических исследований); 2) радиационная цитогенетика; 3) радиационная селекция и 4) биофизическое направление.

3. БИОФИЗИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Как уже говорилось в предыдущей главе, в конце 20-х и начале 30-х годов в общей радиобиологии стали проводить количественные опыты с использованием массового материала (больших совокупностей клеток или одноклеточных), однозначных реакций (например, гибель или инактивация клеток), точной дозиметрии (вначале относительной, а затем и абсолютной, в рентгенах) и строгим количественным учетом единиц реакций с построением кривых доза — эффект. На основе этих опытов и стали применять в радиобиологии принципы попадания и мишени. Открытие сильного мутагенного эффекта ионизирующих излучений, выяснение общего характера мутационного процесса, как спонтанного, так и индуцированного ионизирующими излучениями, и, наконец, разработка абсолютной дозиметрии в ионизационных единицах, естественно, навели на мысль о необходимости развития количественной радиационной генетики с применением уже имевшихся к тому времени в общей радиобиологии достижений. При этом особенно важно то обстоятельство, что дискретные, точно и объективно устанавливаемые в определенных типах скрещиваний мутации являются, по определению, элементарными изменениями элементарных дискретных единиц наследственного аппарата — генотипа; а этот последний, как уже упоминалось, является основной биологической управляющей системой и кодом наследственной информации, передаваемым от поколения к поколению.

Уже в первых опытах на дрозофиле Мёллер применил специальные методы скрещиваний, позволяющие точно учитывать определенные типы мутаций. Так как качественный спектр возникающих мутаций весьма широк, включая чрезвычайно малые отклонения от исходного типа, а также ряд мутаций, которые могут быть обнаружены лишь с помощью специальных методов исследования, то попытки учитывать все возникающие мутации неизбежно ведут к субъективным ошибкам. Поэтому в точных количественных опытах следует, используя специальные методы скрещивания, учитывать совершенно определенную, объективно и точно установимую выборку из общего мутационного процесса, включающую лишь определенные категории мутаций,

возникающих лишь в определенных хромосомах объекта. Как уже упоминалось, Мёллер в своих опытах применил именно такую методику. Он использовал и точную относительную дозиметрию: дозы рентгеновских лучей при постоянных условиях работы аппаратуры варьировали временем экспозиции. К началу 30-х годов была уже достаточно хорошо разработана ионизационная дозиметрия, позволявшая при соответствующей калибровке дозиметров количественно точно сравнивать дозы рентгеновских и γ -излучений различной жесткости. В связи с этим на столь хорошо генетически изученном объекте, как дрозофила, а также на ряде других (растительных) объектов, таких, как кукуруза, львиный зев, табак, ряд культурных злаков, нейроспора и др., можно было провести большие серии опытов по точному изучению влияния дозы, мощности дозы (протрагирования и фракционирования дозы) и жесткости излучений на частоту появляющихся мутаций. Ниже в качестве примера мы приведем результаты некоторых опытов, выполненных на дрозофиле.

Приступая к радиационно-генетическим опытам на дрозофиле, было важно прежде всего убедиться в том, что мутагенный эффект ионизирующих излучений является в значительной мере «прямым», т. е. мутации появляются в непосредственно облученных хромосомах, а не на каких-либо сложных физиологических путях соматической или плазматической индукции мутаций в непосредственно не облучавшихся хромосомах половых клеток. Для проверки этого положения и было проведено на дрозофиле несколько специальных серий опытов.

В первой серии опытов сравнивали частоты сцепленных с полом мутаций, возникших в спермиях самцов следующих групп: необлученные, облученные рентгеновскими лучами средней жесткости (70 кВ), облученные огромной дозой сверхмягких рентгеновских лучей (2,5 кВ), не проникающих (при облучении со стороны спины) на глубину гонад, и, наконец, облученные так же, но дополнительно получившие 3000 р рентгеновских лучей с энергией 70 кВ (табл. 2). Результаты этих опытов показали [Timoféeff-Ressovsky, 1937a], что рентгеновские лучи, не проникающие в гонады, несмотря на то что соматические ткани получили огромную

Т а б л и ц а 2

**Отсутствие соматической индукции при вызывании
мутаций облучением [Timoféeff-Ressovsky, 1937a]**

Вариант опыта	Число гамет	Мутации	
		Число	%
Необлученный контроль	3708	7	$0,19 \pm 0,07$
<i>P</i> -самцы облучены рентгеновскими лучами:			
500 000 <i>p</i> ; 2,5 <i>кв</i>	1883	5	$0,26 \pm 0,11$
500 000 <i>p</i> , 2,5 <i>кв</i> и 3000 <i>p</i> , 70 <i>кв</i>	1107	89	$8,02 \pm 0,82$
3000 <i>p</i> , 70 <i>кв</i>	2239	189	$8,84 \pm 0,59$

дозу, не вызывают мутаций в непосредственно не облученных хромосомах спермиев, и даже мощное облучение соматических тканей (500 000 *p*!) не влияет на частоту мутаций, вызываемых непосредственным облучением зрелых спермиев. Следовательно, соматическая индукция мутаций под влиянием ионизирующих излучений отсутствует или столь мала, что ею можно пренебречь.

Во второй серии опытов необлученных самцов скрещивали с attached-X самками, получившими перед скрещиванием дозу 3000 *p* рентгеновских лучей средней жесткости (70 *кв*) и *F*₁-самцов из этих скрещиваний методом «СІВ» проверяли на частоту сцепленных с полом леталей, содержащихся в их спермиях (рис. 7, а). Частота мутаций в X-хромосомах этих спермиев не отличалась от таковой у контрольных необлученных самцов, скрещивавшихся с необлученными самками, хотя в первом случае соответствующие X-хромосомы происходили от X-хромосом спермиев, находившихся в окружении облученных цитоплазмы и хромосом яйцеклетки (табл. 3) [Timoféeff-Ressovsky, 1937a]. Следовательно, облученная в большой дозе яйцеклетка не повлияла на возникновение мутаций в содержащихся в ней необлученных хромосомах, во всяком случае, после начала дробления. В таких же скрещиваниях облученных attached-X самок с необлученными самцами у самцов *F*₁ (так же, как и в контроле) рецессивных сцепленных с полом мутаций не обнаружили; из этого следует, что и непосредственно после оп-

лодотворения, до начала дробления, в облученном яйце не возникает мутаций в необлученной X-хромосоме, во всяком случае в сколько-нибудь заметной степени.

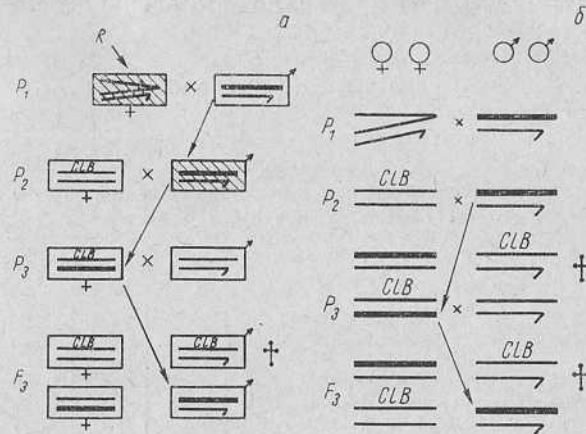


Рис. 7. Схемы скрещиваний для оценки роли плазматической индукции (а) и «последствия» (б) при вызывании мутаций облучением.

Таблица 3
Отсутствие плазматической индукции при вызывании мутаций облучением [Timoféeff-Ressovsky, 1937a]

Вариант опыта	Число гамет	Мутации	
		Число	%
Необлученный контроль	3708	7	$0,19 \pm 0,07$
Необлученные X-хромосомы в яйцеклетках, облученных рентгеновскими лучами	2163	3	$0,14 \pm 0,07$
P-самцы облучены 3000 p рентгеновских лучей	2239	198	$8,84 \pm 0,59$
Оплодотворенные P-самки облучены 3000 p рентгеновских лучей	2631	244	$9,27 \pm 0,57$

Наконец, в третьей серии опытов было проверено наличие или отсутствие последствия облучения на возникновение мутаций (см. рис. 7, б). В этих опытах самцов облучали рентгеновскими лучами средней жесткости (70 кВ) в дозе 3000 p и скрещивали с attached-X самками. Нормальные P₂-самцы из этих скрещива-

ний непосредственно после облучения не содержали никаких летальных мутаций в X-хромосомах, так как при наличии таковых эти самцы не выжили бы. Этих самцов методом CIB проверяли на возникновение мутаций в их X-хромосомах. Как видно из табл. 4, частота мутаций у этих самцов не отличалась от контрольной, т.е. никакого заметного последствия облучения не было обнаружено.

Таблица 4

Отсутствие последствия при вызывании мутаций облучением
[Timoféeff-Ressovsky, 1937a]

Вариант опыта	Число гамет	Мутации	
		Число	%
Необлученный контроль	3708	7	$0,19 \pm 0,07$
Предварительно облученные X-хромосомы	2436	5	$0,21 \pm 0,09$
Непосредственно облученные X-хромосомы	2239	198	$8,84 \pm 0,59$

Таким образом, все эти серии опытов показали, что при вызывании мутаций облучением не наблюдается ни соматической, ни плазматической индукции, ни «последствия», во всяком случае в сколько-нибудь заметной степени. Можно, следовательно, считать, что мутации возникают в основном лишь в непосредственно облученных хромосомах во время или сразу же после облучения.

В основных опытах нужно было прежде всего установить кривую доза — эффект для точковых мутаций. Такие опыты проводились уже в 30-е годы в нескольких лабораториях. На рис. 8 приведены результаты опытов нескольких авторов, применявших CIB-метод скрещивания и точную дозиметрию. Как видно из рисунка, в широком интервале доз, от нескольких сот до 6000 *p*, во всех этих опытах получили прямую зависимость частоты появляющихся мутаций от величины дозы. На рис. 9 приведены кривые доза — эффект для трех групп сцепленных с полом «видимых» мутаций у дрозофилы после облучения самцов в дозах 1,5; 3 и 6 *кр* рентгеновских лучей (70 *кв*): всех видимых мутаций из CIB-скрещиваний, всех видимых мутаций из attached-X скрещиваний и мутаций в шести определен-

ных локусах X-хромосомы (y, w, v, m, g, i). И эти опыты не дали отклонений от прямой пропорциональности дозе. Таким образом, проведенные на весьма большом материале опыты при воздействии достаточно широкого диа-

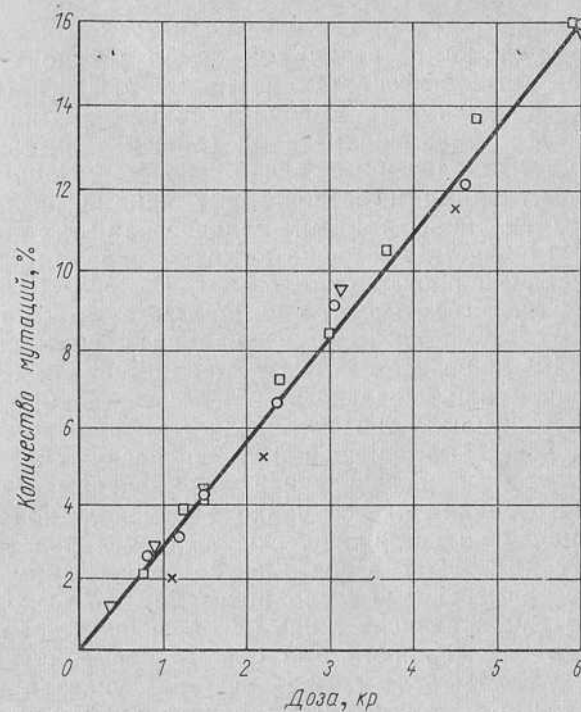


Рис. 8. Кривые доза — эффект для индуцированных облучением CIB-летелей, по данным различных авторов [по: Timoféeff-Ressovsky, Zimmer, 1947]:

□ — Тимофеев-Ресовский; ▽ — Оливер; × — Эфроимсон и Шехтман; ○ — среднее.

пазона доз показали, что дозовые зависимости частот возникающих мутаций соответствуют простым одноударным кривым. Необходимо еще подчеркнуть, что при достаточной нагрузке всех точек кривых их экстраполяция в область нулевой точки системы координат не дает достоверных отклонений от последней. Следовательно, как уже упоминалось в предыдущей главе в отношении гибели или инактивации клеток, мутации могут вызываться

минимальной установимой дозой и с повышением дозы возрастает лишь вероятность их возникновения. Иначе говоря, при вызывании мутаций ионизирующими излучениями не наблюдается нижнего порога эффективных доз.

Как известно, в работах с более или менее сложными или комплексными радиофизиологическими или радиопатологическими реакциями часто можно обнаружить заметный эффект так называемого фактора времени, т.е. зависимость выхода реакций от мощности дозы или ее фракционирования (общей длительности экспозиции). Полученные для точковых мутаций простые, одноударные и беспороговые кривые доза — эффект делали маловероятным наличие для этих реакций эффекта мощности дозы; ряд авторов, однако, провели и специальные проверочные опыты. На рис. 10 приведены результаты четырех серий опытов разных авторов, в которых время экспозиции меняли в пределах от 10^{-1} до 10^3 ч; во всех этих опытах применяли CIB-метод и учитывали сцепленные с полом летальные мутации у дрозофилы. Горизонтальная линия соответствует средней дозе, вызывающей 10% сцепленных с полом леталей. Как видно из рисунка, все экспериментальные точки распределяются, случайно варьируя, около этой линии, не давая систематических отклонений в зависимости от продолжительности экспозиции. Таким образом, экспериментально было показано, что выход точковых мутаций зависит лишь от величины дозы и не зависит от ее мощности или общего времени экспозиции. Результаты этих опытов еще раз указали на то, что точковые мутации, следуя одноударной и беспороговой кривой доза — эффект, являются простыми и прямыми реакциями на облучение.

Особенно большую серию опытов провели, применяя излучения разной жесткости. Результаты этих опытов, в которых применялся CIB-метод скрещиваний, приведены на рис. 11. В этих опытах самцов облучали мягкими (10 кВ), средними (70 кВ) и жесткими (160 кВ) рентгеновскими лучами, β -частицами и γ -квантами радия. Особое внимание уделяли точной сравнительной дозиметрии в рентгенах. Из рис. 11 (кривая 1) видно, что все экспериментальные точки, независимо от жесткости применявшихся излучений, хорошо укладываются в одну

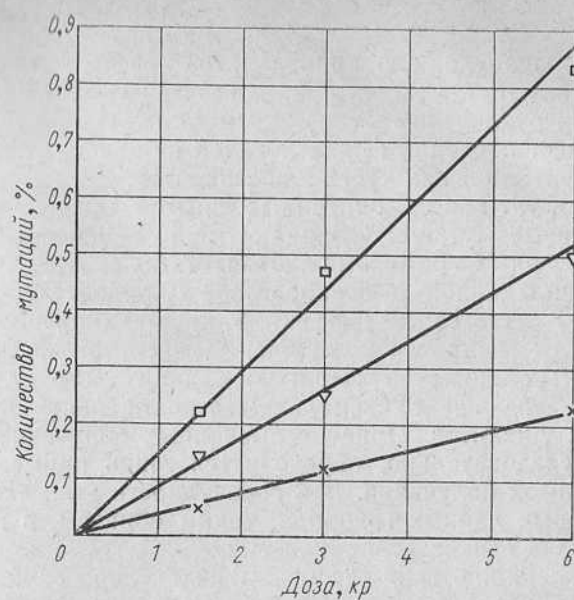


Рис. 9. Кривые доза — эффект для видимых мутаций, учитывавшихся методами CIB (□), attached-X (▽) и мутаций определенных локусов (× — *y*, *w^e*, *w*, *v*, *m*, *g*, *i*) [Timofëeff-Ressovsky, Zimmer, 1947].

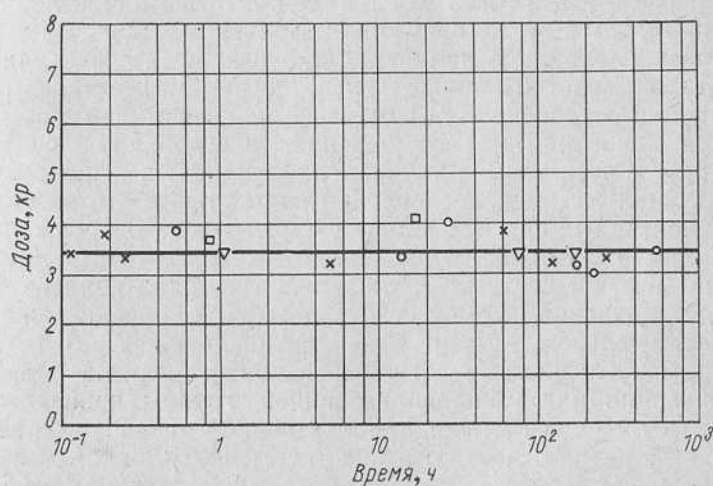


Рис. 10. Независимость частоты индуцированных облучением CIB-леталей от «фактора времени», по данным разных авторов: ▽ — Hanson, Heys; ○ — Patterson; □ — Pickhan; × — Timofëeff-Ressovsky, Zimmer, 1947.

простую одноударную кривую доза—эффект, не давая, в зависимости от жесткости, достоверных или систематических отклонений от нее. Эти опыты показали, что в широких пределах выход леталей не зависит от жесткости рентгеновских лучей или γ -квантов.

Результаты всех описанных опытов показали, что: а) точковые мутации возникают лишь в непосредственно облученных хромосомах; б) частота их следует простой, одноударной и беспороговой кривой доза—эффект; в) мутагенный эффект в широких пределах не зависит от мощности дозы и г) выход вызываемых облучением точковых мутаций на единицу дозы в широких пределах не зависит от жесткости рентгеновских лучей и γ -квантов. Процент вызванных облучением мутаций, следовательно, определяется лишь примененной общей дозой облучения. Вся совокупность этих экспериментальных данных говорила, таким образом, в пользу того, что в основе возникновения одной мутации лежит одно попадание. Это следовало из беспороговой одноударной кривой доза—эффект и из независимости эффекта в широких пределах от фактора времени.

Однако попаданиями могут быть различные физические явления. Как уже упоминалось в предыдущей главе, Кроузер считал попаданием энергию одной ионизации атома, в то время как Холвек и Лакассань, а также Глокер, за попадание принимали прохождение быстрой частицы через некоторый чувствительный объем с оставлением в нем известной энергии в форме ряда ионизаций и возбуждений. Следовало решить вопрос о том, что же является попаданием в отношении индукции мутаций. Основа пригодных для этого весьма элементарных рассуждений схематически изображена на рис. 12. Априори попаданием можно считать либо всю энергию частицы 1, либо энергию ряда ионизаций и возбуждений атомов, оставляемую в определенном чувствительном объеме при прохождении через него заряженной частицы 2, либо, наконец, энергию одной ионизации или узколокализованной группы ионизаций и возбуждений 3. Если принять первое предположение, то при равных дозах мягкие излучения должны оказаться эффективнее жестких, так как на единицу дозы у них приходится большее количество частиц соответственно меньшей энергии и, следовательно, большее

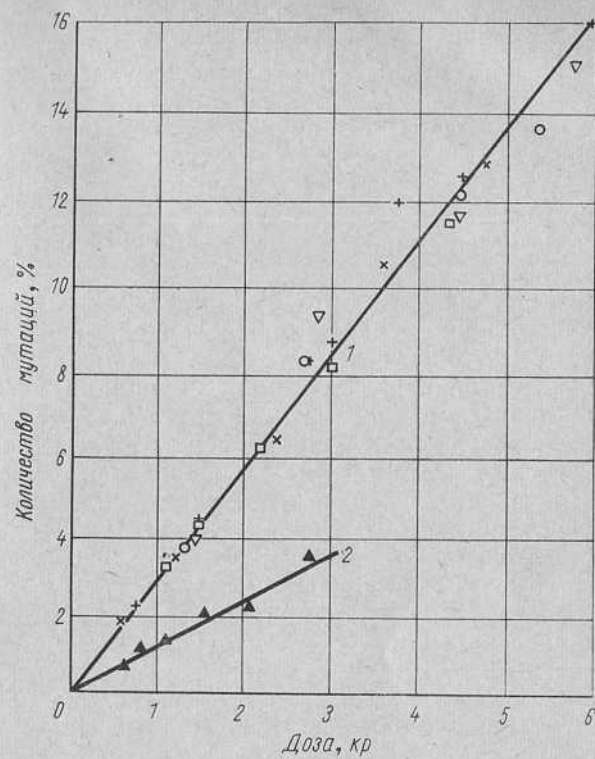


Рис. 11. Кривые доза — эффект для частоты СІВ-лейкемий при воздействии излучениями различных типов [Timoféeff-Ressovsky, Zimmer, 1947]:
 1 — рентгеновские лучи, 10 кВ (□), 70 кВ (+), 160 кВ (×), γ -кванты (○) и β -лучи (▽) радия; 2 — Li+D нейтроны (▲).

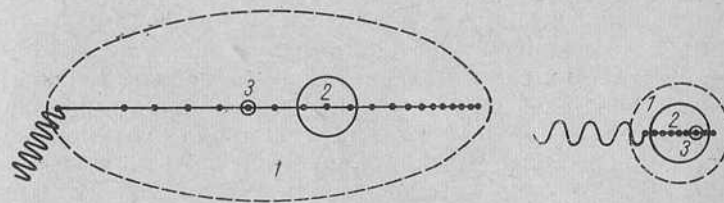


Рис. 12. Различные предположения о событии попадания: вся энергия частицы (1), несколько ионизаций (2) и отдельная ионизация (3) для случаев жестких (слева) и мягких (справа) рентгеновских лучей.

число «снарядов», могущих совершить попадание: в этом случае кривая доза — эффект для мягких лучей должна располагаться выше соответствующей кривой для жестких лучей. Мы видели, однако (см. рис. 11, кривая 1), что выход мутаций на единицу дозы в широких пределах не зависит от жесткости применяемых излучений; следовательно, предположение о том, что событием попадания может служить поглощение энергии одной частицы, не согласуется с экспериментальными данными.

При справедливости второго предположения мы опять-таки должны ожидать определенной зависимости эффекта от жесткости применяемых излучений. Здесь возможны два случая: либо для инициации единицы реакции (одной мутации) нужно относительно много энергии (большое число ионизаций и возбуждений атомов в чувствительном объеме), либо относительно мало энергии (лишь несколько ионизаций в пределах чувствительного объема). В первом случае мягкая частица с относительно большой линейной потерей энергии вдоль трека оставит в чувствительном объеме достаточную энергию, при использовании же жестких излучений для оставления в чувствительном объеме достаточной энергии нужно будет прохождение через него нескольких частиц, т.е. потребуются несколько попаданий. В этом случае, следовательно, с изменением жесткости излучения должна меняться форма кривой доза — эффект, чего, как мы видели выше, не наблюдается. Следовательно, этот первый случай второго предположения также отпадает. Во втором случае жесткая частица внесет в чувствительный объем достаточное количество энергии, а мягкая — избыточную, уже не нужную, но учтенную в дозе энергию (эффект насыщения); с изменением жесткости излучения, так же как и при первом предположении, должен меняться наклон кривой доза — эффект, но в противоположном направлении — снижение эффекта на единицу дозы при использовании более мягких излучений. Мы видели, однако, что этого не наблюдается в экспериментах. Второе предположение, таким образом, тоже отпадает. Остается третье предположение — попаданием является возникновение в чувствительном объеме одной ионизации или узколокализованной группы ионизаций с со-

путствующими возбуждениями. Именно это предположение лучше всего согласуется с результатами всех приведенных выше опытов.

Таким образом, в случае вызывания ионизирующими излучениями точковых мутаций в зрелых спермиях самцов дрозофилы попаданием в первом приближении можно считать одну ионизацию. Необходимо, однако, несколько конкретизировать физическое содержание всего явления попадания.

Если при одноударных реакциях нам известны выход реакции на единицу дозы и электронная плотность (удельный вес) облучаемого вещества, то можно легко вычислить «эффективный объем» для данной реакции, т.е. величину того объема, в пределах которого должна быть поглощена энергия одного попадания, для того чтобы с вероятностью, близкой к единице, вызвать соответствующую единицу реакции. Такие эффективные объемы могут быть выражены либо в числе атомов, либо в виде сферы с определенным радиусом. В отношении мутаций такие эффективные объемы были вычислены для ряда отдельных совершенно определенных мутационных переходов от одного определенного аллеля к другому; несколько соответствующих примеров приведено в табл. 5 [Timoféeff-Ressovsky, Delbrück, 1936]. Надо тут же заметить, что: а) число атомов (или радиус сферы) лишь в первом приближении

Таблица 5

Радиусы формальных эффективных объемов для некоторых мутационных переходов [Timoféeff-Ressovsky, Delbrück, 1936]

Мутационный переход	Вероятность мутации на 1 кр, 10^{-5}	Радиус формального эффективного объема, 10^{-7} см
$+\rightarrow w^e$	2,6	1,57
$w\rightarrow w^e$	0,3	0,77
$w^e\rightarrow +$	0,8	1,06
$+\rightarrow m$	2,4	1,53
$m\rightarrow +$	1,0	1,14
$+\rightarrow f$	6,6	2,14
$f\rightarrow +$	2,4	1,53
Среднее	—	1,39
Среднее по всем мутациям из CIB-скрещиваний	—	1,36

характеризует этот объем, который может иметь различную, нам ближе неизвестную форму; б) величина эффективного объема есть не что иное, как геометрическое выражение выхода реакции на единицу дозы, ибо с увеличением этого выхода соответственно возрастает и эффективный объем, и в) вычисляемый вышеупомянутым способом эффективный объем является минимальным, так как при его вычислении ионный выход реакции (т.е. вероятность инициации единицы реакции при попадании в эффективный объем) принимается равным единице, а совершенно ясно, что при ионном выходе меньше единицы реальный эффективный объем будет больше вычисленного. Поэтому вычисленные таким способом эффективные объемы мы называем «формальными эффективными объемами». Естественно, эти формальные эффективные объемы можно вычислить и для любого выхода суммы разных мутаций на единицу дозы, например, всех сцепленных с полом мутаций, полученных при применении ClB-метода скрещиваний. Этот эффективный объем можно, конечно, выражать в объемных единицах, например в долях кубического сантиметра. В табл. 6 [Zimmer, Timoféeff-Ressovsky, 1942] результаты приведенных на рис. 11 (кривая 1) опытов с излучением разной жест-

Таблица 6
Формальные эффективные объемы,
рассчитанные для мутаций, индуцированных
излучениями различной жесткости
[Zimmer, Timoféeff-Ressovsky, 1942]

Тип излучения	Средний формальный эффективный объем $\bar{V}$, 10^{-17} см ³
Буки-лучи	1,73
Мягкие рентгеновские лучи	1,81
Жесткие рентгеновские лучи	1,77
γ -Кванты	1,76
α -Частицы	1,78
Среднее	1,77

кости, не давших в пределах от очень мягких рентгеновских лучей до γ -лучей радия различий в эффективности, выражены в средних эффективных объемах, которые также не различаются достоверно и могут быть усреднены.

Такая конкретизация явления попадания позволила предпринять экспериментальную проверку предположения о близости к единице ионного выхода точковых мутаций. Зная примерный средний размер эффективного объема, можно подобрать излучения с такой достаточно большой линейной плотностью ионизации, при которой в эффективном объеме должно при прохождении одной частицы возникнуть несколько ионизаций. В этом случае должен либо наблюдаться «эффект насыщения» и эффективность таких излучений окажется более низкой, чем у более жестких, либо, может быть, окажется, что избыточное число ионизаций в эффективном объеме приведет к повышению до того неполного ионного выхода реакции (повышение вероятности осуществления единицы реакции до единицы) и выход реакции на единицу дозы повысится.

Применение даже на столь маленьком объекте, как дрозофила, густоионизирующих частиц (α -частицы или протоны) извне невозможно, так как вследствие сильного поглощения тканями они не проникнут на глубину гонад. α -Частицы радона были введены дрозофиле внутрь путем выдерживания самцов в атмосфере, содержащей радон. В результате под действием α -частиц были получены мутации, но в таких опытах невозможно провести точное количественное определение эффективных доз, выраженных в рентгенах. Однако с конца 30-х годов стало возможно в связи с развитием техники нейтронных генераторов применять быстрые нейтроны, которые, проходя через вещество, содержащее водород, образуют достаточно густоионизирующие протоны отдачи. Так как ткани живых организмов содержат большое количество водорода и он распределен в них статистически равномерно, то воздействие быстрыми нейтронами создает в организме равномерно распределенное облучение протонами отдачи. При этом теоретически вполне возможно создать методы достаточно точной сравнительной дозиметрии этих протонов и рентгеновских лучей.

На рис. 13 приведены результаты опытов разных авторов по определению эффективности мутагенного действия излучений в зависимости от линейной плотно-

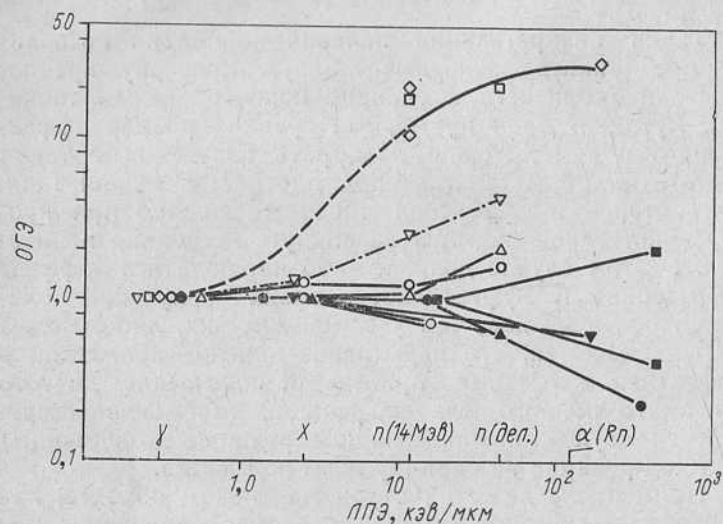


Рис. 13. Относительная генетическая эффективность (ОГЭ) излучений с различными средними значениями линейных потерь энергии (ЛПЭ), по данным различных авторов [суммировано Kondo, 1965]:

▽ — доминантные летали в зрелых спермиях дрозофилы [Edington, Randolph, 1958]; ● — обратные мутации у *Escherichia coli* [Deering, 1963]; ▲ — рецессивные летали у *Neurospora* [Atwood, Mukai, 1954]; ▼ — прямые мутации у *Aspergillus* [Stapleton et al., 1961]; ■ — рецессивные мутации у диплоидных дрожжей [Mortimer, Brustad, 1960; Brustad, 1961]; ○ — сцепленные с полом рецессивные летали у дрозофилы [суммировано Ли, 1963; Edington, Randolph, 1958]; △ — аутосомные видимые рецессивные мутации у шелкопряда [Murakami, Kondo, 1964]; ◇ — хлорофильные мутации у пшеницы [Matsumura, 1961; Matsumura et al., 1963; Fujii, 1963]; □ — соматическая мутация «hairless» у *Arabidopsis* [Fujii, 1964].

сти создаваемой ими ионизации. Мы видим, что результаты этих опытов весьма различны: от существенно меньшей до заметно большей эффективности нейтронов по сравнению с рентгеновскими лучами. Надо сказать, что уже в первых по времени опытах была (экспериментально) разработана и проведена достаточно точная дозиметрия протонов отдачи в тканях дрозофилы, позволяющая надежно сравнивать кривые доза — эффект из опытов с рентгеновскими лучами средней

жесткости и с быстрыми нейтронами; результаты этих опытов приведены на рис. 11, кривая 2. Как видно из этого рисунка, быстрые нейтроны, в основном протоны отдачи, в отношении вызывания данного типа мутаций оказались менее эффективны, чем рентгеновские лучи: это выражается в соответственно меньшем среднем эффективном объеме, равном для опытов с нейтронами $0,72 \times 10^{-17} \text{ см}^3$ по сравнению со средним эффективным объемом из всех остальных опытов с рентгеновскими лучами и γ -квантами, равным $1,77 \times 10^{-17} \text{ см}^3$ (см. табл. 6). Таким образом, эти опыты с быстрыми нейтронами свидетельствовали в пользу предположения об ионном выходе реакции, близком к единице, при вызывании точковых мутаций.

Однако в последнее время Циммер с сотрудниками [Dauch et al., 1966] провели более обширные опыты с применением той же методики дозиметрии быстрых нейтронов, но с уточнением методов применения CIB-скрещиваний в отношении сроков облучения самцов. Эти опыты дали повышение по сравнению с рентгеновскими лучами эффективности протонов отдачи (рис. 14). В случае подтверждения этого последнего результата объяснение нужно искать в предположении, что при попадании в эффективный объем ионный выход при вызывании мутаций заметно ниже единицы; тогда при оставлении в эффективном объеме энергии больше чем одной ионизации вероятность возникновения мутаций должна повыситься при применении более густоионизирующих частиц. Следует при этом ожидать, что зависимость выхода мутаций на единицу дозы от линейной плотности ионизации даст кривую с максимумом, после которого при дальнейшем увеличении линейной плотности ионизации должен все же наступить эффект насыщения. В связи с этим интересно отметить, что в опытах на дрожжах (рис. 15), так же как и на некоторых других объектах (см. рис. 13), были получены именно такие кривые зависимости выхода мутаций от линейной плотности ионизации применяемых излучений.

Кроме того, известно, что рецессивные летали, учитываемые методом CIB, представляют собой смесь генных и хромосомных мутаций. Так как до сих пор не известен с достаточной точностью процент хромосом-

ных мутаций в общем числе рецессивных леталей и так как (что будет показано ниже) хромосомные разломы несомненно с большей легкостью возникают при использовании густоионизирующих частиц, то было бы

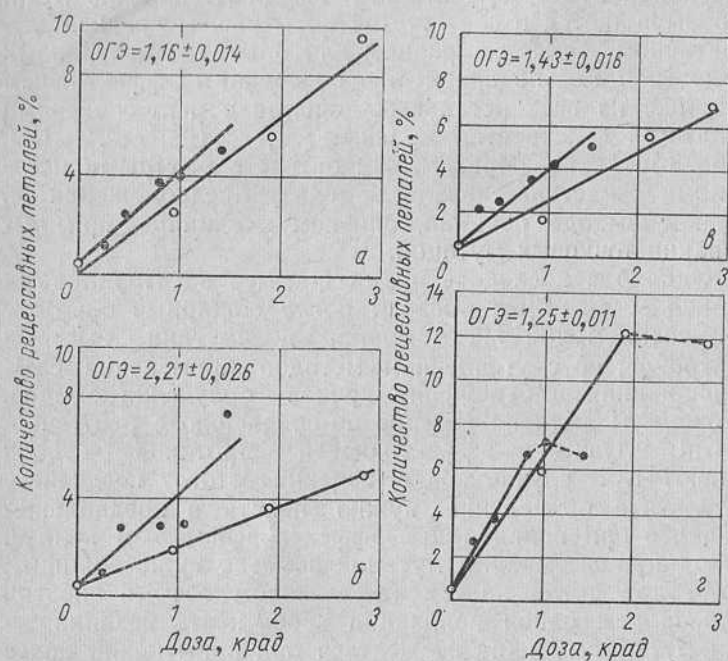


Рис. 14. Кривые доза — эффект для CIB-леталей, индуцированных рентгеновскими лучами, $\lambda_{эфф} = 0,26 \text{ \AA}$ (○) и Li+D нейтронами (●). Графики а—г соответствуют четырем последовательным суточным порциям гамет после облучения самцов [Dauch et al., 1966].

целесообразно сопроводить систематические обширные опыты с нейтронами с применением CIB-метода скрещиваний точным установлением числа и характера хромосомных мутаций, а также провести опыты с помощью методики улавливания лишь точковых мутаций (например, описанный выше attached X-метод).

Нам остается привести лишь результаты еще некоторых опытов и расчетов, имеющих отношение к обсуждаемой проблеме.

Если эффективность облучения непосредственно связана с первичной физической абсорбцией энергии в облучаемых тканях, то выход мутаций на единицу дозы должен повышаться в результате импрегнации мух тяжелыми металлами, например свинцом; при этом

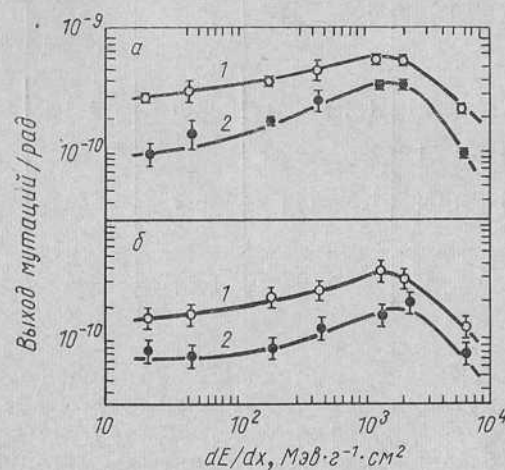


Рис. 15. Влияние ЛПЭ излучений на частоту обратных мутаций (к прототрофности) у диплоидных дрожжей *Sacch. cerevisiae* [Mortimer et al., 1964]:

a — мутации в локусе H1, *б* — мутации в локусе TrF; 1 — облучение на воздухе, 2 — облучение в атмосфере азота.

эффект должен быть наиболее ярко выражен при применении относительно мягких излучений. В табл. 7 приведены результаты опытов по облучению мух, выращенных на нормальной среде и на корме, содержащем соли свинца. Как видно из этой таблицы, при облучении наиболее мягкими из применявшихся рентгеновских лучей получили достоверное повышение частоты мутаций. Существенным является также выяснение вопроса, не является ли действие рентгеновских лучей на гены лишь деструктивным. Для проверки этого Джонстон и Винчестер, Мёллер, Паттерсон, Н. В. Тимофеев-Ресовский и др. проводили специальные опыты по вызыванию облучением прямых и обратных мутаций у дрозофилы. Результаты двух серий таких опытов

Влияние импрегнации мух солями свинца на выход мутаций,
[Buchman,

Напря- жение, кВ	Фильтр	Слой половинного поглощения	Корм без свинца		
			Число F_2 -культур	Число мутаций	Частота мутаций, %
70	0,5 мм Al	1,5 мм Al	1640	183	11,15 $\pm 0,78$
100	1 мм Al	2,75 мм Al	571	66	11,56 $\pm 1,33$
180	1 мм Cu	1,35 мм Cu	353	39	11,05 $\pm 1,67$
Итого	—	—	2564	288	11,23 $\pm 0,62$

приведены в табл. 8; в этих опытах получен целый ряд обратных мутаций в ряде мутантных локусов в X- и III хромосомах дрозофилы. В табл. 9 приведены данные по вызыванию прямых и обратных мутаций в пяти различных локусах у дрозофилы. Эти опыты показывают, что в разных случаях обратные мутации могут возникнуть реже, с одинаковой частотой или чаще, чем прямые мутации. Таким образом, результаты этих опытов показывают, что облучение не обязательно разрушает гены, а может изменять их структуру.

Наконец, следует привести данные специальных опытов и вариационно-статистические расчеты, касающиеся правомерности применения выборочного метода для характеристики мутационного процесса и статистической надежности метода ClB при определенном стандартном его применении. Определенными выборками из общего мутационного процесса, например мутациями одной определенной хромосомы, улавливаемыми определенными методами скрещиваний (например, мутациями X-хромосомы в ClB и attached X-скрещиваниях), вполне правомерно пользоваться для характеристики всего мутационного процесса лишь в том случае, если разные большие участки генома обладают (в среднем) примерно одинаковой мутабельностью на единицу длины хромосом. Для проверки этого разные

Таблица 7

индуцированных рентгеновскими лучами различной жесткости
Zimmer, 1941]

Корм со свинцом			Разность между частотами мутаций	Массовый коэффициент абсорбции для свинца μ/ρ , $\text{см}^2/10^2$
Число F_2 -культур	Число мутаций	Частота мутаций, %		
1779	303	$17,03 \pm 0,89$	$5,80 \pm 1,13$	5,3
809	114	$14,09 \pm 1,22$	$2,86 \pm 1,37$	2,8
473	53	$11,20 \pm 1,45$	$0,03 \pm 1,58$	0,5
—	—	—	—	—

авторы провели специальные опыты, в которых учитывали все рецессивные летали, возникающие в результате облучения рентгеновскими лучами в разных хромосомах дрозофилы. В табл. 10 приведены результаты этих опытов, отнесенные к одной и той же дозе 3000 p. В двух нижних строках этой таблицы приводятся цифровые отношения частот появившихся мутаций в разных хромосомах и численные отношения длин этих хромосом, причем за единицу принята длина X-хромосом. Из этой таблицы видно, что отношения частот мутаций и длин хромосом хорошо соответствуют друг другу, следовательно, разные участки генома обладают в среднем одинаковой мутабельностью.

Для суждения о надежности CIB-метода проведен анализ дисперсии в 211 группах по 200 CIB-скрещиваний (все скрещивания за семь лет работы разбивались на группы по 200 просто в порядке номеров протоколов, т. е. эти группы были совершенно случайны, но распределены в течение длительного отрезка времени). Все группы скрещиваний (190 групп по 200 скрещиваний) из опытов, в которых облученных самцов содержали с самками не более трех дней, дали вполне нормальную, не повышенную дисперсию; те же скрещивания (21 группа по 200 скрещиваний), в которых самцов содержали с самками в течение недели, дали

Таблица 8

Обратные мутации рецессивных мутантных аллелей
у *D. melanogaster*

Облученные аллели и их локализации	Данные Timofëeff-Ressovsky (1934, 1937); доза 5000 p		Данные Jonston, Winchester, — 1934; доза 3900 p	
	Число аллелей	Число мутаций	Число аллелей	Число мутаций
X-хромосома				
0,0 y	40 456	1	69 923	1
0,0 +sc	17 676	3	101 042	5
1,5 w	87 504	3	—	—
1,5 w ^e	89 583	5	—	—
1,5 w ^a	—	—	69 302	0
5,5 ec	17 676	0	57 323	0
14,0 cv	35 109	2	—	—
20,0 ct	12 914	0	57 423	1
21,0 sn	16 273	1	—	—
33,0 v	48 033	3	61 119	1
36,0 m	18 637	1	39 923	4
44,0 g	12 914	0	57 323	5
56,0 i	58 460	14	130 421	17
62,0 car	—	—	69 302	2
III хромосома				
0,0 ru	12 775	1	—	—
26,0 h	27 155	1	—	—
42,0 th	5 681	0	—	—
44,0 st	48 987	2	—	—
48,0 p ^p	63 541	10	—	—
50,0 cu	5 681	0	—	—
59,0 ss	85 373	3	—	—
62,0 sr	5 681	0	—	—
71,0 e	21 832	0	—	—
71,0 e ^s	27 155	1	—	—
101,0 ca	5 681	0	—	—
Итого	764 647	51 0,0064%	713 001	36 0,0051%
Необлученный контроль	279 368	0	700 000	0

Таблица 9

Прямые и обратные мутации в пяти различных локусах
у *D. melanogaster*; рентгеновские лучи, доза 5—6 кр
[Timoféeff-Ressovsky, 1932]

Пары аллелей	Прямые мутации		Обратные мутации	
	Число гамет	Число мутаций	Число гамет	Число мутаций
$W \rightleftharpoons w$	112 000	44	87 500	0
$W \rightleftharpoons w^c$	112 000	12	89 500	3
$V \rightleftharpoons v$	51 500	4	48 000	3
$F \rightleftharpoons f$	51 500	12	58 500	14
$P \rightleftharpoons p$	67 500	1	63 500	10

Таблица 10

Частоты рецессивных летальных мутаций в различных хромосомах
D. melanogaster, отнесенные к дозе 3000 р рентгеновских лучей
[Timoféeff-Ressovsky, Zimmer, 1947]

Автор	Хромосомы			
	I	II	III	IV
R. L. Berg, 1937	8,4%	23,4%	—	0,3%
Н. И. Шапиро и Р. Сереб- ровская, 1934	8,4%	21,9%	—	—
Н. В. Тимофеев-Ресовский	9,0%	21,6%	24,2%	—
Отношения частот мутаций	1	2,5	2,6	0,04
Отношение длин хромосом:				
в митозе	1	1,5	1,5	0,05
в слюнных железах	1	2,2	2,4	0,06

повышенную дисперсию в распределении по группам числа возникших мутаций. Из этого следует, что при содержании облученных самцов не более трех дней с самками СВ-метод дает очень надежные и вполне воспроизводимые результаты [Pätau, Timoféeff-Ressovsky, 1943].

Необходимо теперь вкратце рассмотреть степень надежности всего комплекса взаимосвязанных описан-

ных выше радиационно-генетических опытов на дрозофиле. Как мы видели, существенную роль в выявлении природы первичного пускового механизма, ведущего к возникновению точечной мутации, играют результаты опытов с излучениями разной жесткости. В основе же этих опытов должна лежать сравнительная дозиметрия различных ионизирующих излучений в рентгенах или рентген-эквивалентах (в конечном счете в радах). Вполне достаточная точность сравнительной дозиметрии в рентгенах, при высокой дозиметрической технике, возможна в пределах от сверхмягких рентгеновских лучей (2,5—10 кэ) до относительно жестких γ -квантов (1000—2000 кэ). Точная дозиметрия быстрых нейтронов (т. е. протонов отдачи) в рентген-эквивалентах, к сожалению, развита еще слабо, и мы считаем, пожалуй, наиболее точной разработанную Циммером 25 лет назад дозиметрию быстрых нейтронов с помощью малых камер со стенками из азрона, содержащего водород в той же концентрации, что и облучаемый объект (в описанных опытах — ткани дрозофилы). Во всяком случае, точная сравнительная дозиметрия различных ионизирующих излучений для радиобиологических целей требует серьезной теоретической, технической и экспериментальной ревизии. При современном же состоянии этой проблемы, к сожалению, далеко не всегда можно с достаточной точностью оценивать и сравнивать радиобиологические результаты *разных* авторов, полученные с применением *разных* излучений и на *разных* объектах.

Все описанные опыты на дрозофиле проводили с облучением зрелых спермиев (т. е. самцов облучали непосредственно перед скрещиванием). Как показали упоминавшиеся статистические расчеты, это условие выдерживается в том случае, если облученные самцы дрозофилы содержатся с самками не более двух-трех дней; в противном случае в оплодотворении могут участвовать спермии, облучавшиеся в незрелых стадиях, а различные стадии гаметогенеза могут обладать разной радиочувствительностью. Следовательно, во всех сериях точных радиационно-генетических опытов, в которых сравнивается действие *разных* доз, *разных* мощностей доз, *разных* жесткостей излучений и *разных* сопутствующих факторов на выход мутаций, целесообразно рабо-

тать лишь с воздействиями на зрелые спермии, так как только в этом случае будет выдерживаться необходимое требование однородности облучаемых объектов.

Наконец, несколько слов об объективно установленной выборке из мутационного процесса. В этом отношении у дрозофилы имеется достаточное число различных методов скрещивания типа CIB, типа attached-X и различные балансированные и меченные по ауто-сомам культуры, позволяющих точно, объективно и полно учитывать определенные группы мутаций. При этом чаще всего работали со сцепленными с полом рецессивными летальными, так как при использовании соответствующих методов скрещивания (типа CIB или Мёллер-5) по ним можно с наименьшей затратой труда получить наибольший по численности материал. Однако рецессивные летали, несомненно, представляют собой гетерогенную группу, состоящую из генных, или точковых, мутаций и из хромосомных мутаций. К сожалению, до сих пор еще нет достаточно обширного сравнимого материала, который объективно показывал бы процентное участие точковых и разных типов хромосомных мутаций, улавливаемых, скажем, CIB-методом скрещивания; кроме того, не вполне ясно, в какой степени среди различных хромосомных мутаций рецессивный летальный эффект определяется (при их улавливании данным методом скрещивания) «точковыми летальными».

Окончательное и точное решение этого вопроса также имеет существенное значение, ибо первичные физические процессы, в том числе и физическое содержание понятия попадания, при вызывании точковых мутаций, с одной стороны, и хромосомных разломов, с другой, могут быть различными.

Однако, несмотря на все эти возможные неточности, отсутствие внутренних противоречий в результатах описанных в этой главе сериях различных радиационно-генетических опытов, в которых сознательно применялась единообразная методика облучения и учета мутаций, заставляет думать, что возможные неточности методики и несомненная гетерогенность учитывавшихся выборок из мутационного процесса не играли количественно особенно существенной роли.

4. ВОЗНИКНОВЕНИЕ РАЗЛОМОВ ХРОСОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОБЛУЧЕНИЯ

Иное, чем точковых, поведение хромосомных мутаций в радиационно-генетических опытах обнаружено в

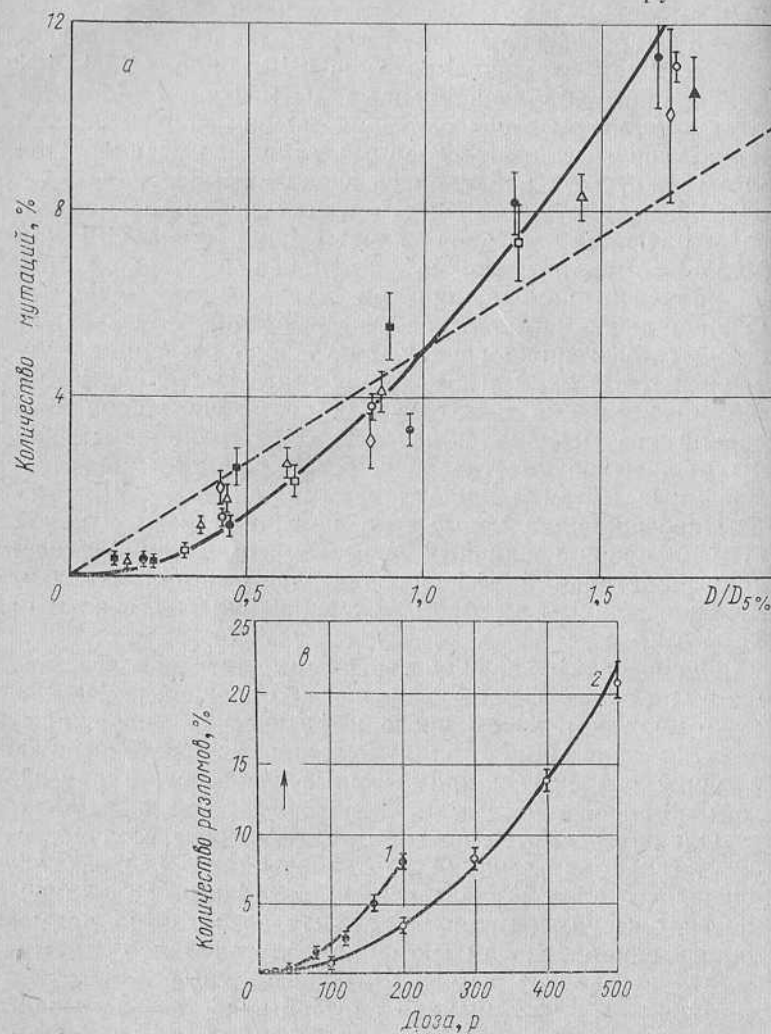
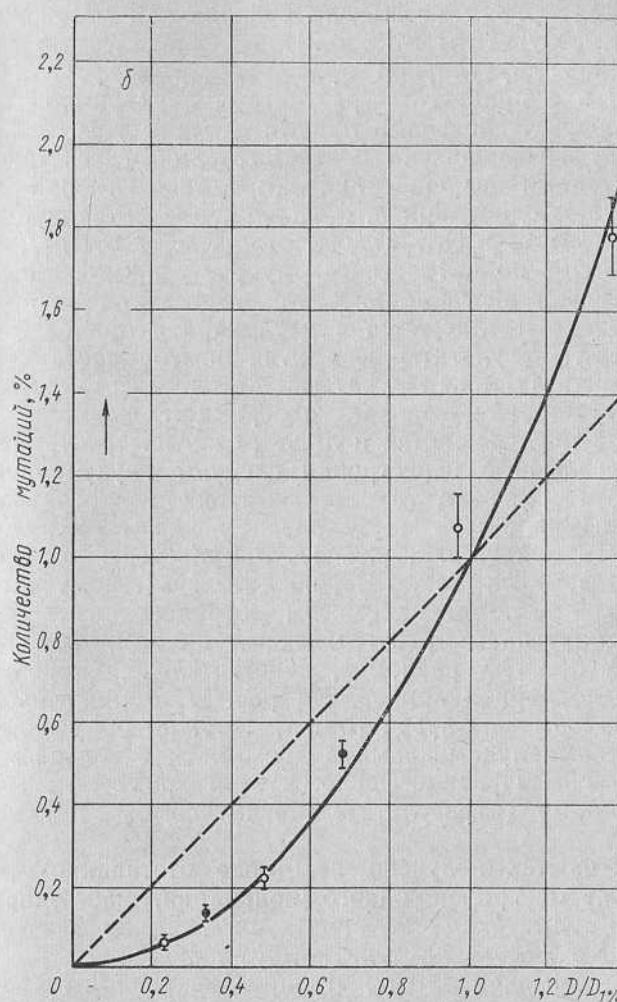


Рис. 16. Кривые доза — эффект

а — генетически учитываемые перестройки у дрозофилы по данным различных Хвостовой и Гавриловой, Muller, Oliver и собственным; б — мелкие перестройки (1), $y = (9,36 \cdot 10^{-3} D)^2$ и хромосомные (2), $y = (9,36 \cdot 10^{-3} D)^2$ перестройки у Tradescantia

огромном числе исследований, из которых мы упомянем лишь некоторые, наиболее существенные в аспекте вопросов, обсуждаемых в этой главе.

На рис. 16 приведены результаты опытов разных



для хромосомных мутаций:
авторов [сводка Catsch, 1948, по данным Бельговского, Тимофеева-Ресовского, стройки у дрозофилы [Panschin et al., 1945]; δ — хроматидные (1), $y = (1.49 \times$ [Sax 1940].

авторов по учёту вызываемых разными дозами рентгеновского облучения хромосомных перестроек у дрозофилы, учитывавшихся генетическими методами скрещивания. Как видно из рис. 16, *а*, на котором пунктирной линией изображена одноударная, а сплошной — двухударная кривая (дозы для сравнимости отложены в $D/D_{5\%}$), результаты этих опытов неплохо соответствуют именно двухударной кривой доза — эффект. На рис. 16, *б* и *в* приведены результаты двух опытов по вызыванию рентгеновскими лучами делеций у *D. melanogaster*, учитывавшихся соответствующими генетическими методами скрещиваний (прерывистой линией изображена одноударная, сплошной — двухударная кривая доза — эффект, а доза отложена в $D/D_{1\%}$), а также опытов по цитологическому учёту хромосомных перестроек у традесканции. Эти результаты также очень хорошо согласуются с двухударной кривой доза — эффект. Результаты всех этих опытов заставили предположить (так как учитывавшиеся здесь хромосомные перестройки основаны в огромном своем большинстве на двух разломах и лишь редко на трех), что, если двуразломные перестройки следуют двухударной кривой доза — эффект, то отдельные единичные разломы должны нарастать с увеличением дозы согласно одноударной кривой. На рис. 17, *а* приведены результаты опытов Сакса [Sax, 1940] по цитологическому учёту простых разломов хромосом у традесканции, вызванных облучением рентгеновскими лучами; частота вызванных простых разломов, действительно, хорошо следует одноударной кривой. На рис. 17, *б* приведены результаты опытов Бауэра [Baueg, 1942] по облучению рентгеновскими лучами самцов дрозофилы с кольцевой X-хромосомой. Простые разломы этой хромосомы ведут к дефициту (в результате гибели) самок F_1 поколения.

В этих опытах получено некоторое отставание эффекта даже от кривой одного попадания, наблюдавшееся при достаточно высоких дозах, и, во всяком случае, нет и намека на кривую двух попаданий. Можно, следовательно, полагать, что простые разломы хромосом, лежащие в основе всех дальнейших их перестроек, действительно, возникают при облучении в результате одного попадания.

В некоторых случаях двуразломные хромосомные перестройки отстают от двухударной кривой (рис. 17, в). Для этих случаев предложено несколько объяснений: а) дефицит в соединении фрагментов в разных участках хромосом или в разное время после

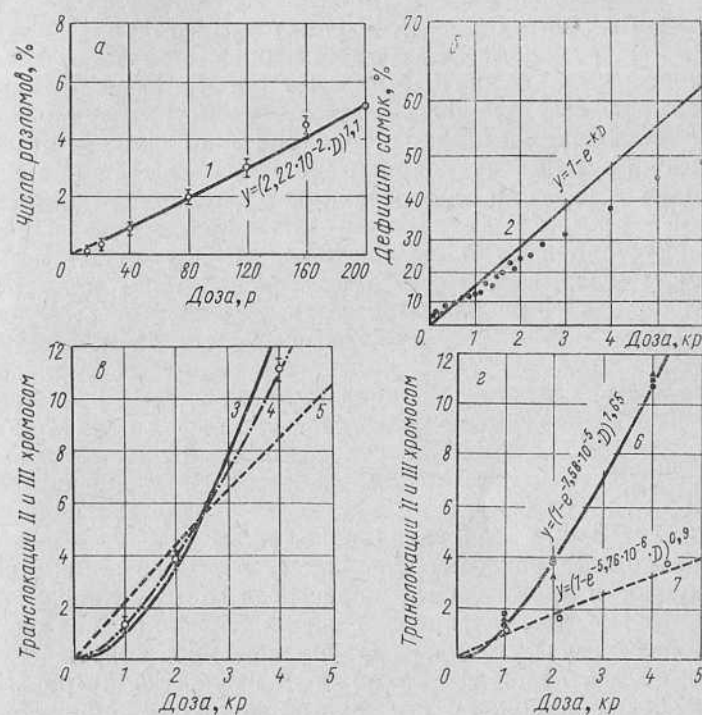


Рис. 17. Кривые доза — эффект для хромосомных разломов у традесканции (а) и дрозофилы (б) и транслокаций у дрозофилы (в и г):

— — — — — двухударная кривая; — — — — — одноударная кривая; — · — · — — — — — кривая с экспонентой 1,65; на рис. 17, г: ▲, ■ и ● — рентгеновские лучи разной жесткости, $\lambda_{\text{эфф}}$ равна 0,15; 0,4 и 0,5 Å соответственно; ○ — быстрые нейтроны L1 + D.

их образования; б) ограниченное число участков в ядре, где разные хромосомы или участки одной хромосомы настолько сближены, что между ними может произойти обмен; в) дифференциальная жизнеспособность разных перестроек и г) возможность образования двух

разломов (особенно при компактной упаковке хромосом в спермиях) прохождением «густоионизирующего» хвоста» быстрых электронов. Справедливость по крайней мере некоторых из этих допущений была подтверждена экспериментально. Так, Кач и И. Б. Паншин [Catsch, Panschin, 1945] провели специальные опыты с учетом (методом скрещиваний) транслокаций между II и III хромосомами дрозофилы после облучения рентгеновскими лучами и быстрыми нейтронами зрелых спермиев (см. рис. 17, *г*). Из этого рисунка видно, что при вызывании этих транслокаций рентгеновскими лучами получена двухударная кривая, а быстрыми нейтронами (протонами отдачи) — одноударная кривая доза — эффект. Результаты этих опытов показывают, что густоионизирующие частицы, во всяком случае в зрелых спермиях, могут одним попаданием вызывать больше одного разлома хромосом.

Таким образом, хромосомные перестройки следуют кривым доза — эффект, соответствующим числу лежащих в их основании первичных хромосомных разломов. Кстати, Бауэр суммировал собственный и литературный материал по вызыванию рентгеновскими лучами самых разнообразных хромосомных перестроек у дрозофилы; при этом суммарная кривая доза — эффект неплохо соответствовала (по числу попаданий) среднему числу хромосомных разломов, лежащему в основе данной совокупности хромосомных перестроек [Baueг, 1939]. Следовательно, элементарное явление, лежащее в основе хромосомных мутаций, — разлом или иное повреждение хромосомы, делающее возможным последующий разлом или рекомбинацию, — вызывается явлением одного попадания.

Весьма существенно отметить, что прямыми опытами Блума (1961) и других авторов, с применением микропучков протонов и микроманипуляционной техники, путем прямых прижизненных наблюдений и микрокиносъемками было установлено, что разломы хромосом вызываются лишь при непосредственном облучении ионизирующими частицами самих хромосом, но не близлежащих участков цитоплазмы.

Но есть основания полагать, что физическое содержание понятия попадания в случае вызывания хромосомных разломов может быть существенно иным, не-

жели при вызывании точковых мутаций. По-видимому, в отличие от точковых мутаций попадание в случае хромосомных разломов заключается в прохождении частицы через хромосому с оставлением в эффективном объеме энергии, большей, чем энергия одной ионизации. Это следует, во-первых, из опытов Ли и Катчесайда [Lea, Catcheside, 1942] по вызыванию хромосомных aberrаций у Tradescantia излучениями с различной линейной плотностью ионизации (ЛПИ); при этом был получен максимум эффективности в области относительно высоких ЛПИ, из чего Ли рассчитал, что на эффективное «попадание» необходима энергия около 15 ионизаций. Если результаты расчетов Ли сейчас и могут быть подвергнуты сомнению, то в пользу принятия большей энергии на попадание в случае разломов хромосом говорит и то, что быстрые нейтроны (т. е. протоны отдачи), по-видимому, заметно эффективнее рентгеновских лучей и γ -квантов при вызывании хромосомных разломов и aberrаций. Несмотря на упоминавшиеся выше неточности нейтронной дозиметрии в рентген-эквивалентах, это заключение можно считать достаточно достоверным, так как во всех работах получена однозначная и весьма существенная разница в эффективности нейтронов и рентгеновских лучей.

Вывод о том, что разломы хромосом, т. е. элементарные явления, лежащие в основе любых хромосомных перестроек, следуют одноударной кривой доза — эффект и вызываются непосредственным действием ионизирующих излучений на хромосомы, можно, по-видимому, считать окончательно установленным. Однако как реализация самого разлома хромосомы (после попадания, создавшего физическую возможность этого разлома), так и механизмы, лежащие в основе рекомбинаций и воссоединения хромосомных фрагментов, ведущих к разным типам хромосомных перестроек, именно в последнее время стали менее ясны и определены, чем это казалось 20 лет назад; к этому вопросу на другом уровне мы вернемся в гл. 5. Во всяком случае, несмотря на обилие отдельных фрагментарных радиационно-цитогенетических работ, совершенно необходимым является проведение, с применением единообразной методики и точной сравнительной дозиметрии, систематических серий опытов на

определенном удобном для цитогенетических целей объекте. Лишь анализ результатов таких исследований можно будет положить в основу правильной интерпретации любых специальных опытов, в которых изучаются эффекты различных сопутствующих факторов в различных экспериментальных ситуациях.

4. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Наиболее существенным общим выводом из всех рассмотренных в этой главе радиационно-генетических опытов является следующий. Можно считать, что элементарные дискретные изменения элементарных дискретных компонентов генотипа (генов) у всех в этом отношении изученных живых организмов вызываются всеми типами ионизирующих излучений, следуя при этом одноударной кривой доза — эффект. Опыты с излучениями разных мощностей дозы и разной жесткости позволили в значительной мере конкретизировать то физическое явление, которое служит физическим пусковым механизмом, вызывающим мутации, — попадание в определенный эффективный объем в форме одной ионизации. Такая конкретизация понятий попадания и мишени позволяет, независимо от возможных дальнейших усложнений и изменений наших представлений в деталях, построить схему теоретических основ формулировки принципа попадания в радиобиологии с соответствующим этой формулировке рядом основных понятий. Этому будет посвящена следующая глава. Доказательство же того, что первичным элементарным событием более сложных хромосомных перестроек также является одно непосредственное попадание в материал хромосом, должно лечь в основу дальнейших рассуждений как о механизмах осуществления хромосомных перестроек, так, частично, и в основу анализа причин и процессов, ведущих к гибели облученных ионизирующими излучениями клеток; последний вопрос будет затронут в гл. 5 и 6.

ОБЩАЯ ФОРМУЛИРОВКА ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ
И СВЯЗАННЫХ С НИМ ПОНЯТИЙ

Подытожим кратко результаты опытов и соображений, описанных и упомянутых в первых двух главах. Уже в 30-е годы в количественной радиобиологии и особенно в радиационной генетике многие авторы перешли в точных количественных экспериментах к учету дискретных единиц реакций, возникающих после облучения достаточно больших совокупностей более или менее идентичных биологических объектов. В то же самое время теоретически обосновывалось применение в радиобиологии принципа попадания; при этом авторы таких теоретических работ исходили из дискретной природы взаимодействия ионизирующих частиц с веществом. Применение принципа попадания к реакциям, естественно распадающимся на отдельные дискретные единицы, просто решило упоминавшийся выше парадокс биологического действия ионизирующих излучений, а именно то обстоятельство, что единица наблюдаемой реакции (будь то одна мутация, один разлом хромосомы, гибель или инактивация одной клетки) может с соответственно малой вероятностью возникнуть под влиянием минимальных установившихся доз ионизирующих излучений, причем с повышением дозы повышается лишь частота (т. е. вероятность осуществления) тех же единиц реакции. Эти ситуации — возникновение дискретных единиц реакции под воздействием дискретных порций энергии и повышение частоты их возникновения с увеличением дозы — совершенно естественно и неизбежно требовали применения принципов попадания и мишени.

В результате проведения упоминавшихся в первых двух главах опытов первая редакция формулировки принципа попадания в радиобиологии, данная в первых публикациях Дессауэра, Кроузера и Холвека, получила более конкретное физическое содержание.

Кроузер в ряде работ сформулировал его как оставление определенной дискретной «порции энергии» в определенном «чувствительном объеме», изменение структуры которого влечет за собой (с определенной, конечно, вероятностью) появление единицы наблюдаемой реакции. В дальнейших опытах путем анализа кривых доза — эффект с учетом влияния мощности дозы и сравнительной эффективности излучений разной жесткости удалось, с одной стороны, далее конкретизировать физическое содержание попадания, а с другой — подойти к установлению понятия и примерных размеров чувствительных объемов.

Для некоторых относительно элементарных реакций, дающих одноударную кривую доза — эффект (например, возникновение мутации), удалось показать, что попадание представляет собой узколокальный акт взаимодействия быстрой частицы с веществом (одна ионизация атома или узколокальная группа из нескольких ионизаций с сопутствующими возбуждениями) и что энергия такого попадания должна быть оставлена в пределах определенного эффективного объема, величина которого определяет выход реакции на единицу дозы. Такие эффективные объемы оказались, с микрофизической точки зрения, относительно большими — состоящими из сотен и тысяч атомов. С другой стороны, можно предполагать, что ряд определенных конкретных единиц реакции должен быть связан с узколокальным изменением в относительно небольшом участке молекулы или мицеллы. Из этого следует, что эффективные объемы, как правило, больше (иногда значительно больше) того места в молекулярной структуре, которое претерпевает изменение вследствие попадания. Из этого, в свою очередь, в качестве неизбежного вывода следует необходимость признания наличия в пределах эффективного объема некоей миграции энергии от места ее первичной абсорбции к месту действия без диссипации ниже порога работы.

По отношению к ряду совершенно определенных генных мутаций, т. е. переходов от одного определенного к другому определенному аллелю, эффективные объемы размером от нескольких сот до нескольких тысяч атомов («формальные эффективные объемы», являющиеся минимальными — см. гл. 2) были определены

уже 30 лет назад [Timoféeff-Ressovsky, Delbrück, 1936]. Несомненно, что такие совершенно определенные мутационные шаги от одного аллеля к другому могут быть связаны с первичным нарушением определенной атомной связи или изменением какого-либо рода в весьма маленькой группе атомов (по современным представлениям, например, в изменении, приводящем к замене одного нуклеотида другим). Следовательно, собственно «место действия», в котором происходит первичное изменение, ведущее к образованию единицы реакции (в данном случае определенной мутации), может быть много меньше размеров эффективного объема. Эта ситуация и привела к необходимости постулировать какие-либо механизмы транспорта, или миграции энергии попадания от места ее первичной абсорбции в пределах эффективного объема к месту действия. Так как ни точная структура генных макромолекул, ни место первичной абсорбции энергии попадания, естественно, в то время не были известны (да и сейчас с нужной детализацией и точностью неизвестны), то, основываясь на радиационно-генетических опытах, необходимость миграции энергии возможно было постулировать лишь в самой общей форме.

К счастью, примерно одновременно с этими опытами группа физиков, работавших в области возбуждения люминесценции путем облучения люминофоров ионизирующими излучениями, пришла к совершенно параллельным выводам. Но там все было более просто и обозримо. Облучался кристаллический сульфид цинка, загрязненный в незначительной степени атомами меди (примерно 1 атом меди на 3000 атомов кристаллической решетки). При люминесценции эффективные объемы оказались равными двум-трем тысячам атомов. Первичная ионизация могла произойти в любом из этих атомов, а «срабатывал» (что легко можно было установить спектральным анализом свечения) именно атом меди. Для этих случаев физики разработали электронный механизм миграции энергии, работающий в высокоупорядоченных системах типа кристаллов или полупроводников.

В конце 30-х годов при изучении возбуждения свечения в органических полимерах и тушения этого свечения молекулами-тушителями (в системе ориентирован-

ных полимеров, в которые энергия поступала с определенного конца, а молекула-тушитель находилась на определенном известном расстоянии от места поступления энергии возбуждения) была установлена возможность миграции энергии до молекулы-тушителя через сотни и даже тысячи мономеров. Для этого и подобных случаев была разработана теория механизма миграции энергии с помощью дипольного резонанса.

Наконец, примерно в те же годы эффективные объемы вычислялись в радиационно-химических опытах по обесцвечиванию водных растворов метиленовой сини; эти эффективные объемы заметно превышали объемы молекул метиленовой сини. Однако если опыты проводились на замороженных растворах, то эффективные объемы и соответственно выход реакции на единицу дозы сокращались до объемов соответствующих молекул. Из этого следовало, что в молекулу метиленовой сини энергия могла поступать «извне», т.е. из водного раствора путем переноса с помощью диффузии химически высокоактивных продуктов радиолиза воды.

Приведенных примеров достаточно, чтобы показать, что в зависимости от субстрата и условий эксперимента уже четверть века назад было найдено несколько физических механизмов возможной миграции энергии в мицеллярных, молекулярных, межмолекулярных и кристаллических объемах [Riehl et al., 1941, 1943]. Уже тогда было совершенно ясно, что способ миграции энергии и, в связи с этим, величина эффективного объема могут и должны зависеть от физико-химического строения облучаемого материала. С тех пор при изучении явления люминесценции и в некоторых других областях физики изучили и сформулировали еще ряд различных физических механизмов миграции энергии, хотя по отношению к радиобиологическим реакциям ни в области теоретических построений, ни в проведении каких-либо модельных опытов существенных дальнейших успехов пока не достигнуто.

Для нас здесь важно следующее. Во всех реакциях, по-видимому, инициируемых в дискретных микроструктурах дискретными порциями энергии, т.е. всюду, где мы неизбежно имеем дело с принципами попадания и мишени, эффективные объемы могут значительно превышать размер «места действия», и, следовательно, в

пределах эффективных объемов должны работать те или иные механизмы миграции энергии.

Здесь следует подчеркнуть, что, к сожалению, в радиобиологии часто вносится путаница в понятия «прямого» и «непрямого» действия излучений. Если под прямым действием понимать лишь попадание в само место действия, то в связи с тем, что ионизирующие излучения (даже при относительно высоких дозах) являются фактором малой плотности, выходы всех радиобиологических реакций были бы совершенно ничтожны. Конечно, под прямым действием излучений следует понимать попадания именно в некий эффективный объем, в пределах которого (с помощью тех или иных физических механизмов) энергия попадания, не диссипировав ниже порога работы, может достичь места действия. С этой точки зрения совершенно неправильным является и весьма обычное обозначение в качестве непрямого действия всех тех случаев, в которых перенос энергии к месту действия производится (целиком или частично) с помощью диффузии продуктов радиолиза воды (или другой жидкой среды), возникших в пределах некоего «эффективного объема». Эти продукты радиолиза должны возникать на расстоянии от места действия, не превышающем такое, с которого активная частица может (с достаточной вероятностью) путем диффузии достичь того места в реагирующей единице, где должно произойти первичное изменение или откуда энергия может мигрировать далее к месту действия с помощью других механизмов. Радиационные реакции, в которых существенное значение имеют продукты радиолиза воды, следовательно, ничем принципиально не отличаются от любых других случаев прямого действия излучений, так как диффузия активных частиц к месту действия является лишь одним из возможных механизмов миграции энергии в пределах эффективного объема.

Здесь уместно еще одно замечание. В целом ряде различных опытов многими авторами было установлено заметное влияние на выход какой-либо достаточно точно учитываемой радиобиологической или радиационно-генетической реакции тех или иных сопутствующих облучению факторов, таких, например, как физиологические состояния облучаемых клеток или тканей,

стадии митотического или мейотического циклов, парциальное давление кислорода или других газов, облучение при различных температурах и содержании воды в клетках и тканях, одновременное применение каких-либо химических воздействий и пр. Во всех случаях, в которых сопутствующие факторы и условия в разных вариантах опытов варьируются или оказываются различными после облучения, дело, естественно, должно сводиться к влиянию этих факторов на какие-то звенья иногда сложной цепи реакций, следующих за возникновением первичного физического пускового механизма наблюдаемой реакции, или дело сводится к кинетике и динамике возможных процессов восстановления нормы после возникших биологически обратимых изменений. Подробнее эти случаи разбираются в следующих главах. Однако часто различия в выходах реакций на облучение при воздействии различными перечисленными факторами лишь до или во время самого облучения считаются аргументом против прямого действия излучений или применимости принципов попадания и мишени. При этом исходят из совершенно правильного соображения о том, что все эти «комнатные» факторы не могут воздействовать на физическое взаимодействие быстрых частиц с веществом, но забывают об эффективных объемах и неизбежной миграции энергии попадания к месту действия. Однако на механизмы и условия этой миграции энергии могут и должны оказывать влияние структура и состояние облучаемого субстрата, на которую, в свою очередь, вполне могут повлиять вышеперечисленные «комнатные» сопутствующие факторы. Последнее обстоятельство должно неизбежно привести к изменению величины эффективного объема, т.е. выхода реакции на единицу дозы. Мы полагаем, что целый ряд результатов количественных радиобиологических опытов должен быть пересмотрен с этих позиций.

После всего сказанного мы должны дать более точное описание физического содержания «события попадания» в радиобиологии. *Событием попадания является абсорбция дискретной порции энергии, оставляемой быстрой частицей в форме ионизаций или возбуждений атомов в пределах некоего «эффективного объема», из любой точки которого эта энергия, не диссипировав*

ниже порога работы, с помощью какого-либо физического механизма миграции достигает «места действия», т. е. такого реального участка соответствующей физико-химической единицы, изменение которого служит пусковым механизмом изучаемой реакции. Из такой формулировки понятия событие попадания ясно видна неизбежная взаимосвязь понятий *попадание, эффективный объем, миграция энергии и место действия*, а также бессодержательность попыток абстрактного, изолированного рассмотрения каждого из этих понятий.

Теперь следует сформулировать все основные понятия, связанные с применением принципа попадания в радиобиологии. Прежде всего необходимо выделить *реагирующий объект*: он представляет собой ту дискретную биологическую единицу — клетку или одноклеточное — по изменению которой можно судить об осуществлении изучаемой реакции. Далее необходимо выделить собственно реагирующие единицы, т. е. те клеточные или внутриклеточные структуры, изменения которых представляют собой изучаемую реакцию. В связи с этим необходимо учитывать *единицы реакции*, осуществление каждой из которых должно быть однозначно связано с изменением одной реагирующей единицы (например, реагирующей единицей может быть клетка, а единицей реакции — ее гибель; реагирующей единицей может быть хромосома, а соответствующей единицей реакции — ее разлом; реагирующей единицей может быть ген, а единицей реакции — мутация этого гена). В пределах реагирующей единицы необходимо постулировать собственно *место действия*, т. е. тот конкретный ее участок, переход которого из одного относительно стабильного состояния в другое является тем физическим пусковым механизмом, который приводит или может привести к формированию наблюдаемой единицы реакции. Наконец, для изменения реагирующей единицы в *месте действия* необходимо осуществление *попадания* в пределах *эффективного объема*, т. е. того объема, из любой точки которого энергия попадания, не диссипировав ниже порога работы, может с определенной вероятностью *мигрировать* к месту действия.

Из сказанного следует, что некоторые радиобиологические реакции могут возникать в результате одного

или нескольких попаданий в один и тот же эффективный объем, вызывая первичные изменения в одном месте действия: с другой стороны, определенная реакция может наступить в результате попаданий в несколько эффективных объемов и, следовательно, нескольких первичных изменений в разных местах действия.

К концу 30-х годов был проведен анализ кривых нескольких попаданий в один или несколько эффективных объемов. К сожалению, получающиеся в этих двух случаях различия между кривыми доза — эффект не позволяют с достаточной точностью экспериментально различать между такими случаями реакций на несколько или много попаданий. Именно поэтому в соответствующей радиобиологической литературе уже неоднократно отмечалось, что для суждения о том, вызывается ли данная единица реакции (в случае многоударных реакций) несколькими попаданиями в один эффективный объем (одна многоударная мишень) или же попаданиями в несколько эффективных объемов (несколько мишеней), требуются данные о самой природе реагирующего объекта, реагирующей единицы и изучаемой реакции, полученные независимо от радиобиологических экспериментов [Timoféeff-Ressovsky, Zimmer, 1947]. К сожалению, такими данными в большинстве случаев мы не располагаем. Кстати, упомянутая в первой главе биологическая изменчивость радиорезистентности (которая, конечно, имеет место) тоже влияет на форму многоударных кривых. Но и здесь чаще всего невозможно различать экспериментальные кривые с разным числом попаданий и наличием биологической изменчивости в радиорезистентности. Известен курьезный случай: одноударная форма кривой доза — эффект может являться результатом нескольких многоударных кривых, каждая из которых описывает реакцию на облучение определенной группы особей гетерогенной популяции. Именно в силу вышесказанного в ряде случаев при проведении анализа с точки зрения принципа попадания необходимо руководствоваться критериями всей экспериментальной ситуации, на которых мы подробно остановимся в последующих главах.

Нужно еще кратко остановиться на вопросе о возможных пространственных соотношениях понятий реа-

гирующего объекта, реагирующей единицы, эффективного объема и места действия. Прежде всего ясно, что многое зависит от экспериментальной ситуации и выбора реакции. Если мы, например, в качестве единицы учитываемой реакции принимаем гибель или инактивацию одной клетки при облучении совокупности клеток, то реагирующий объект и реагирующая единица совпадают (клетка), хотя и в этом случае мы в определенных опытах можем вычислить средние эффективные объемы и на основании ряда соображений принять определенное место действия. В тех же случаях, когда единицей реакции является изменение совершенно определенной внутриклеточной структуры, например разлом хромосомы, мутация гена или изменение пластиды, реагирующая единица всегда меньше реагирующего объекта. Место действия всегда меньше реагирующей единицы, ибо при любых разумных предположениях и определениях первичное изменение, лежащее в основе единицы реакции, будет не диффузионным изменением всех элементов реагирующей единицы, а локальным изменением небольшого ее участка.

Сложнее пространственно-количественные соотношения между эффективным объемом, местом действия и реагирующей единицей. Эффективный объем (за исключением вряд ли существенных предельных случаев совпадения в размерах с местом действия) всегда больше места действия. Он в большинстве случаев меньше реагирующей единицы. Однако, как мы видели выше на примере обесцвечивания метиленовой сини в растворе (то же наблюдается при инактивации ряда ферментов в растворах), участие в миграции энергии диффузионного механизма переноса продуктов радиолиза воды ведет к тому, что эффективный объем может быть и больше реагирующей единицы (каковой в данном случае является соответствующая молекула, изменение которой является единицей реакции). Во всех случаях необходимо помнить о том, что эффективный объем и реагирующая единица — разные понятия и что определение размеров эффективного объема почти ничего не говорит о размерах соответствующей реагирующей единицы. В отдельных случаях, например при инактивации некоторых мелких вирусов, размер эффективного объема может, по-видимому, мало отличаться от устанавливае-

мого другими методами размера соответствующей реагирующей единицы (в данном случае частицы вируса [Lea, 1946]).

Уже в гл. 1 упоминался и обсуждался «парадокс биологического действия ионизирующих излучений». Здесь необходимо вернуться к нему и рассмотреть его с иной точки зрения. Действительно, при облучении живых организмов и отдельных клеток экстремальный биологический эффект (гибель организма или клетки) вызывается относительно малыми дозами излучений. Мы уже видели в гл. 1, и еще более ясным это становится из вышеприведенной формулировки понятий, связанных с применением в радиобиологии принципа попадания, что само введение в радиобиологию принципов попадания и мишени делает многое более ясным. Например, возможность возникновения определенной единицы реакции при минимально установившихся дозах (одно попадание в форме одной ионизации) и повышение с дозой лишь вероятности возникновения таких единиц реакции непосредственно следуют из этих принципов.

Однако у многих биологов все же остается представление о том, что необходимо (особенно в тех случаях, когда единицей реакции является гибель клетки или организма) искать механизмы работы принципа усилителя, с помощью которого можно было бы представить себе наступление гибели клетки как следствие первичного возникновения в ней одной ионизации. Предлагались и обсуждались различные физико-химические механизмы усиления первичного физического пускового изменения; наиболее интересной, пожалуй, является попытка Б. Н. Тарусова (1954) привлечь представление о цепных реакциях в качестве такого механизма усиления первичного эффекта. Надо, однако, подчеркнуть, что такие поиски специальных *физических* или физико-химических механизмов усиления, в сущности, излишни. Действительно, в биологии мы на каждом шагу встречаемся с проявлением *биологических* механизмов усиления, например, в росте, развитии, дифференцировке, внешнем проявлении мутаций и т. д. Связано это с тем, что как основное свойство живых организмов — размножение, так и протекание всех специфических реакций синтеза свя-

зано с наличием специфических матриц — макромолекулярных структур. Эти матрицы осуществляют в определенной констелляции условий либо ауторепродукцию в форме конвариантной редупликации (например, конвариантная редупликация хромосом в митозе и мейозе), либо синтез специфических белков (в рибосомах с помощью РНК-матриц), либо, наконец, катализ различных специфических реакций (с помощью специфических ферментов, имеющих определенную макромолекулярную структуру).

Таким образом, *матричный принцип* является одним из важнейших общих принципов, лежащих в основе жизнедеятельности организмов. С матричным принципом, естественно, связана деятельность принципа усиления. Действительно, выпадение или изменение любой матричной структуры неизбежно сказывается на продукции каких-либо специфических соединений или протекании специфических реакций в клетке. При этом последствия разрушения или изменения какой-либо матрицы в результате прекращения или изменения ее постоянной синтетической или каталитической работы будут тем существеннее для клетки, чем более глубокой или уникальной такая матрица являлась. Мы знаем, например, что незначительное структурное изменение гена (уникальной первичной матрицы, являющейся элементом кода наследственной информации и, тем самым, исходной управляющей системой определенного специфического синтеза или целой цепи последующих биохимических реакций в клетке) может привести к любым последствиям: от возникновения в чреде поколений целой линии макрофизически измененных потомков до гибели индивидов, подчас сложных и крупных, в результате связанной с этим изменением рецессивной или доминантной нежизнеспособности (летали).

Следовательно, в силу специфики явлений жизни (рост, размножение, дифференцировка) любые изменения и тем более разрушение макромолекулярных матриц неизбежно влекут за собой проявление принципа усилителя, основанного на постоянной специфической работе этих матриц. Естественно, эффект будет тем значительнее, чем более редкой (в пределе уникальной, как, например, генотип и его элементы) будет пораженная матрица и чем меньше ее работа компенсируется други-

ми матричными процессами. С этой точки зрения вполне понятно и общеизвестное сейчас явление в радиобиологии — значительно более высокая радиорезистентность цитоплазмы по сравнению с ядром в отношении жизнеспособности облученных клеток и значительно более дифференцированные реакции на изменения в клеточных ядрах по сравнению с таковыми, возникающими в результате цитоплазматических изменений [Астауров, 1947, 1963].

Все сказанное делает вполне естественной и понятной возможность возникновения экстремальных клеточных эффектов (гибель или инактивация клетки) в результате энергетически ничтожных первичных пусковых изменений и, в целом ряде случаев, пропорциональное дозе повышение вероятности их возникновения, ведущее к одноударным кривым доза — эффект. Нам кажется, что при таком рассмотрении всей проблемы в большинстве случаев нет никакой необходимости в поисках каких-либо специальных механизмов усиления первично возникающих реакций на облучение.

В этой главе мы чисто формально дали систему представлений, связанных с явлением попадания в радиобиологии. В заключение надо указать на следующее. Комплекс событий, связанных с явлением эффективного попадания, можно, в самой общей форме, схематически изобразить следующим образом. Попадание в виде дискретной порции энергии (в простейшем случае — одной ионизации) осуществляется в пределах некоего эффективного объема, и это в результате миграции энергии попадания влечет за собой изменение в месте действия. При этом вероятность достижения места действия элементарной энергетической единицы «попадания» может быть близкой к единице или заметно меньшей; в последнем случае границы эффективного объема будут в той или иной мере размыты, а выход реакции на единицу дозы будет повышаться с увеличением числа попадающих в эффективный объем единиц энергии, например при применении излучений с более высокой линейной плотностью ионизации. Первичный физический механизм единицы реакции может в известных случаях с вероятностью, близкой к единице, привести к непосредственному переходу определенной высокостабильной исходной структуры реагирующей единицы к новой ста-

бильной структуре или состоянию без длинной цепи промежуточных реакций. Например, нарушение химической связи или активация определенной атомной группы в пределах макромолекулы может непосредственно повлечь за собой замену одной молекулярной субструктуры на другую — одного мономера на другой мономер в полипептидной цепи, или одного радикала на другой, или одной боковой цепи на другую. В других случаях первичное изменение в месте действия может с определенной вероятностью привести к началу более или менее простой или сложной цепи реакций, приводящей через ряд промежуточных состояний к новой стабильной структуре реагирующей единицы. В обоих этих случаях возможно влияние целого ряда различных сопутствующих факторов на конечный эффект облучения (в конечном счете на величину выхода реакции на единицу дозы). Ряд факторов, никак не влияющих на взаимодействие быстрых частиц с веществом, т. е. на вероятность первичной абсорбции части энергии частицы в облучаемом веществе, может менять структуру эффективного объема, например, изменяя ориентацию или микрогеометрическую конфигурацию длинных молекул или степень их гидратации или гистерезиса. В результате изменится протяженность, длительность или даже форма миграции первично абсорбированной энергии в эффективном объеме и, вследствие этого, соответственно изменится и величина эффективного объема и выход реакции на единицу дозы. Конечно, соответствующие факторы должны для этого сработать уже к моменту облучения. Такие же сопутствующие факторы могут повлиять и на структуру или состояние места действия, тем самым изменяя первичный ионный выход реакции в месте действия. Наконец, определенные факторы, даже при их воздействии после облучения, когда между первичным пусковым механизмом, возникшим в месте действия, и конечным стабильным состоянием, характеризующим единицу реакции, имеется цепь переходных промежуточных реакций или состояний, могут влиять на образование первого переходного состояния или переходов от предыдущих переходных состояний к последующим. В этих случаях мы встретимся либо с эффектом восстановления, либо с понижением вероятности формирования единицы реакции, что будет рас-

сма­тривать­ся бо­лее по­дроб­но в сле­ду­ю­щих гла­вах. Все ска­зан­ное мо­жет быть пред­ме­том не­по­сред­ствен­но­го ана­ли­за при при­ме­не­нии прин­ци­пов по­па­да­ния и ми­ше­ни (со все­ми ран­ее пе­ре­чис­лен­ны­ми со­пут­ст­вую­щи­ми по­ня­тия­ми) к от­но­си­тель­но про­стым ре­ак­ци­ям эле­мен­тар­ных внут­ри­кле­точ­ных струк­тур, да­ю­щим од­но­удар­ные кривые до­за — эф­фект. Но и при те­о­ре­ти­че­ских ин­тер­пре­та­ци­ях лю­бых бо­лее слож­ных и ком­плек­сных ра­дио­био­ло­гиче­ских ре­ак­ций сле­ду­ет пом­нить, что на­ряду с воз­мож­ны­ми, за­тем­ня­ю­щи­ми кар­ти­ну кос­вен­ны­ми дей­ствия­ми об­лу­че­ния, свя­зан­ны­ми с фи­зи­о­ло­гиче­скими кор­ре­ля­ци­ями про­цес­сов внут­ри кле­ток или ор­га­низ­ма в це­лом, в ос­но­ве всех бо­лее слож­ных ра­дио­био­ло­гиче­ских ре­ак­ций дол­жны ле­жать раз­лич­ные ком­би­на­ции про­стых эле­мен­тар­ных ре­ак­ций на по­па­да­ния. К воз­мож­но­му зна­че­нию про­стых ко­личес­вен­ных пред­став­ле­ний, свя­зан­ных с при­ме­не­нием прин­ци­па по­па­да­ния в ра­дио­био­ло­гии при рас­смот­ре­нии ком­плек­сных ра­дио­био­ло­гиче­ских ре­ак­ций, мы еще вер­нем­ся в по­след­ней гла­ве.

Толь­ко что из­ло­жен­ные на­ми об­щие прин­ци­пы в раз­ной фор­ме, с не­сколь­ко раз­лич­ных точек зре­ния уже бы­ли до­воль­но де­таль­но сфор­му­ли­ро­ва­ны в трех спе­ци­аль­ных мо­но­гра­фиях: Ли [Lea, 1946], Н. В. Тимо­фе­ева-Ресов­ско­го и К. Г. Ци­м­ме­ра [Timoféeff-Ressovsky, Zimmer, 1947], Бу­ц­ца­ти-Тра­вер­зо и Ка­вал­ли (Buzzati-Traverso, Cavalli, 1948). Особенно последовательно и закон­чен­но при­ме­не­ние прин­ци­па по­па­да­ния бы­ло из­ло­же­но Ли, а ис­ход­ны­ми экс­пе­ри­мен­та­ми и кон­цеп­ци­ями яви­лись, с од­ной сто­ро­ны, мно­го­чис­лен­ные дан­ные Д. Э. Ли с ря­дом соав­то­ров, а с дру­гой сто­ро­ны, ра­ди­а­ци­он­но-ге­не­ти­че­ские опы­ты Дель­брю­ка, Н. В. Тимо­фе­ева-Ресов­ско­го и Ци­м­ме­ра с соав­то­ра­ми. Это на­прав­ле­ние в ко­личес­вен­ной био­физике ио­ни­зи­ру­ю­щих из­лу­че­ний по­лу­чи­ло в ли­те­ра­ту­ре на­зва­ние клас­сиче­ско­го, а пер­вой кон­струк­тив­ной ре­ви­зи­ей это­го клас­сиче­ско­го на­прав­ле­ния яви­лась кни­га К. Г. Ци­м­ме­ра (1961).

ВЛИЯНИЕ СОПУТСТВУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК

1. ВВОДНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

В предыдущих главах уже отмечалось, что сферой приложения принципов попадания и мишени в радиобиологии являются первичные физические пусковые механизмы реакций клеток на облучение, но отнюдь не последующие цепи событий, инициируемые этими первичными механизмами и ведущие к проявлению конечных эффектов. В связи с этим были сформулированы и основные требования, предъявляемые к избираемым реакциям и к методике радиобиологических опытов, соблюдение которых совершенно необходимо для биофизического анализа эффектов облучения с позиций принципов попадания и мишени. Напомним, что основным требованием к изучаемой реакции является ее достаточная элементарность, т.е. наблюдаемый эффект должен быть более или менее непосредственным (не затемненным сложными физиолого-биохимическими корреляциями) следствием осуществления событий попадания в эффективные объемы. В противном случае количественные соотношения в первичных процессах могут быть настолько модифицированы в ходе развития радиобиологической реакции, что, основываясь на изучении одних только конечных эффектов, станет практически невозможно получить информацию о первичных процессах. Не подлежит сомнению, однако, что в основе любых, даже самых комплексных, реакций на облучение организмов любой степени сложности лежат все те же первичные процессы взаимодействия излучений с субстратом, которые осуществляются по принципам попадания и мишени. В качестве примеров достаточно элементарных реакций клеток на облучение были приведены такие, как мутации и гибель (или инактивация) клеток. Основным требованием, предъявляемым к методике постановки радиобиологических опытов, является строгое соблюдение постоянства всех, кроме специально изучаемых, параметров системы и

уровней сопутствующих облучению факторов. Оба эти требования непосредственно вытекают из того, что хотя любые модификации сопутствующих облучению факторов и условий в пределах толерантности биологических объектов и являются пренебрежимо малыми в отношении влияния на процессы взаимодействия излучений с веществом, тем не менее такие модификации могут весьма существенно воздействовать на реагирующие объекты и реагирующие единицы, сказываясь на размерах, форме или структуре эффективных объемов, т. е. изменяя условия миграции энергии в пределах этих эффективных объемов и, следовательно, выход реакции на единицу дозы.

К настоящему времени в радиобиологии накоплен большой материал, показывающий, что даже такие относительно элементарные реакции клеток на облучение, как мутации и гибель или инактивация клеток, подвержены значительным модифицирующим воздействиям различных сопутствующих облучению физических, химических и биологических факторов. Причем в зависимости от условий до, во время или после облучения может изменяться как наклон, так и форма радиобиологических кривых доза — эффект. Некоторые примеры изменения выхода индуцированных облучением мутаций и гибели и инактивации клеток в результате воздействия различных сопутствующих факторов приведены на рис. 18—27. Рисунки убедительно показывают, что, с одной стороны, сформулированное выше требование к чистоте постановки радиобиологических опытов имеет исключительно большое значение и что, с другой стороны, вопрос о влиянии сопутствующих факторов на выход радиобиологических реакций заслуживает специального рассмотрения.

Дальнейшее изложение будет построено следующим образом: вначале будет рассмотрен вопрос об общем характере действия сопутствующих облучению факторов в радиобиологических реакциях, затем будут изложены краткие сведения о влиянии некоторых физических, химических и биологических факторов на выход реакций клеток на облучение и, наконец, будет обсужден вопрос о значении изучения модифицирующих воздействий в анализе радиобиологических данных с позиций принципов попадания и мишени.

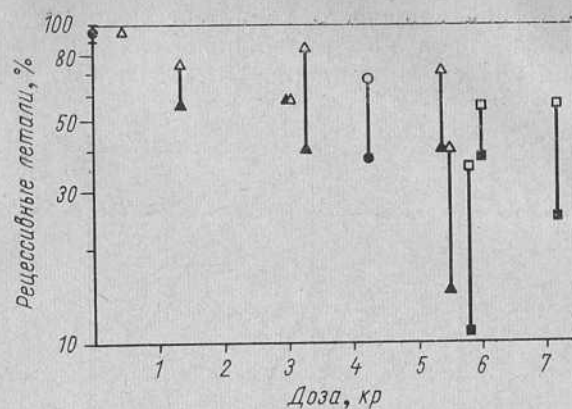


Рис. 18. Влияние кислорода во время облучения на частоту индуцированных облучением рецессивных леталей у *Parametium aurelia* [Kimball, Gaither, 1953]:
Значки, связанные линиями, — пары наблюдений и показывают количество нормальных экзавтогамных клонов после облучения при пониженном (2% и менее — светлые значки) и повышенном (20% и более — черные значки) содержании кислорода; Δ — рентгеновские лучи; $\circ$, $\square$ — различные методы культивирования.

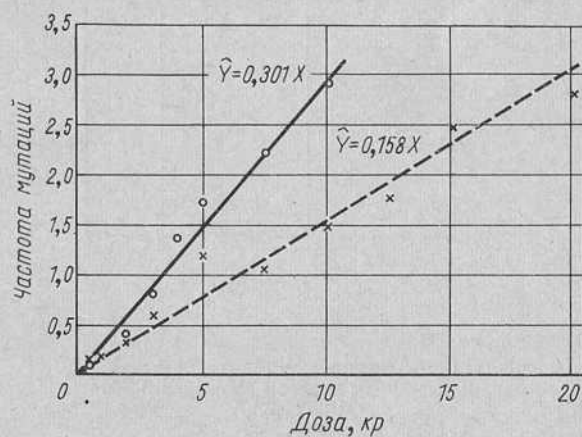


Рис. 19. Влияние кислорода во время намачивания облученных рентгеновскими лучами семян (сразу после облучения) на частоту хлорофильных мутаций у ячменя (на 100 особей X_2) [Caldecott, 1961]:
—— аэробное, — — — — анаэробное намачивание.

Рассмотрение вопроса о характере действия сопутствующих факторов на радиобиологические реакции клеток мы начнем с примера. В 1954 г. Вуд [Wood],

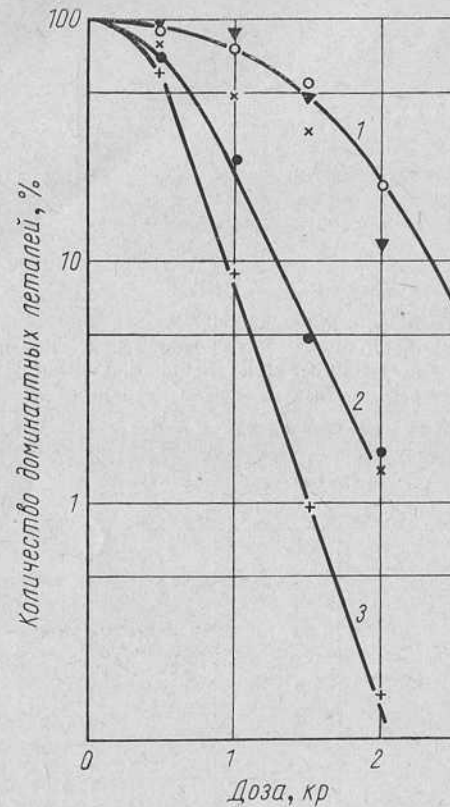


Рис. 20. Частота доминантных гамет в овогенезе *Artemia salina*, облученных в различные фазы мейоза [Ballardin, Metalli, 1965]:

1 — метафаза; 2 — средняя профазы; 3 — ранняя профазы.

изучая радиочувствительность дрожжевых клеток при облучении суспензий дрожжей при различных температурах, обнаружил, что при охлаждении суспензий ниже точки замерзания радиочувствительность резко падала

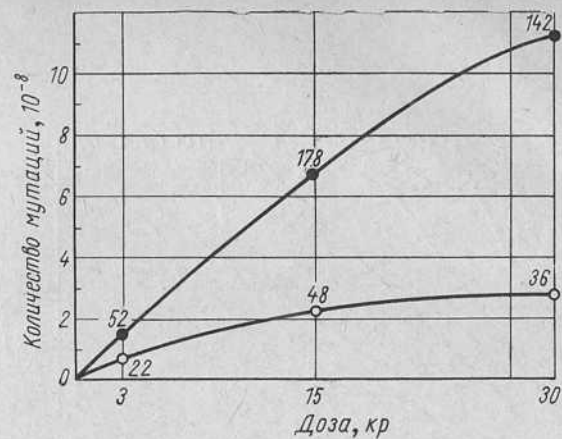


Рис. 21. Число реверсий в индуцированных рентгеновским облучением делящихся (●) и неделящихся (○) клетках мутанта *M₂ Schizosaccharomyces pombe*. Цифры у кривых — число реверсий [Fritz-Niggli, 1965].

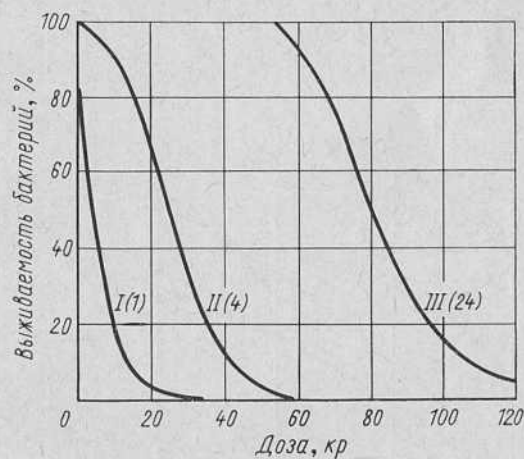


Рис. 22. Влияние условий культивирования на выживаемость *E. coli* при рентгеновском облучении:

I — аэробная культура на МБ, облучение в атмосфере O_2 ; II — аэробная или анаэробная культура на МБ с глюкозой, облучение в атмосфере O_2 ; III — анаэробная культура на МБ с глюкозой, облучение в атмосфере N_2 . Цифры в скобках — число мишеней [по Hollaender et al., 1957].

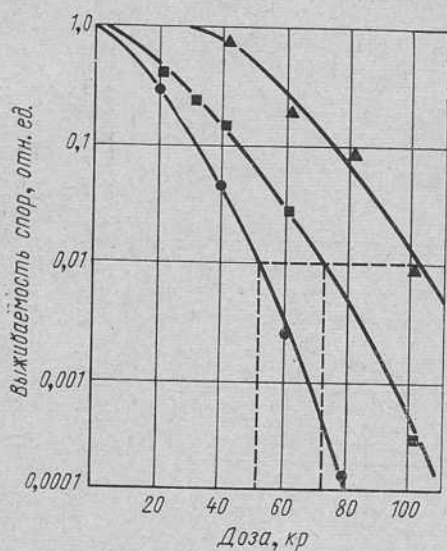


Рис. 23. Влияние влажности бактериальных спор при облучении на их выживаемость [Hollaender, 1956]:
● — споры, суспендированные в воде; ■ — споры нормальной влажности; ▲ — высушенные споры.

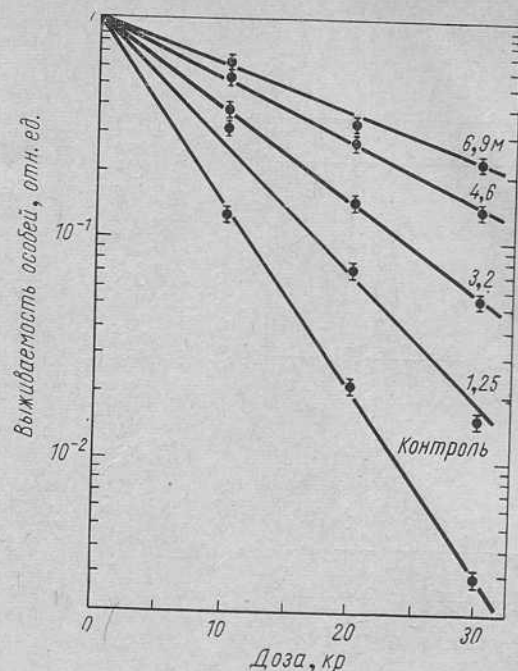


Рис. 24. Выживаемость гаплоидных дрожжей, облученных рентгеновскими лучами при различных молярных концентрациях глицерина в суспензиях (концентрации показаны цифрами у кривых) [Wood, Rosenberg, 1957].

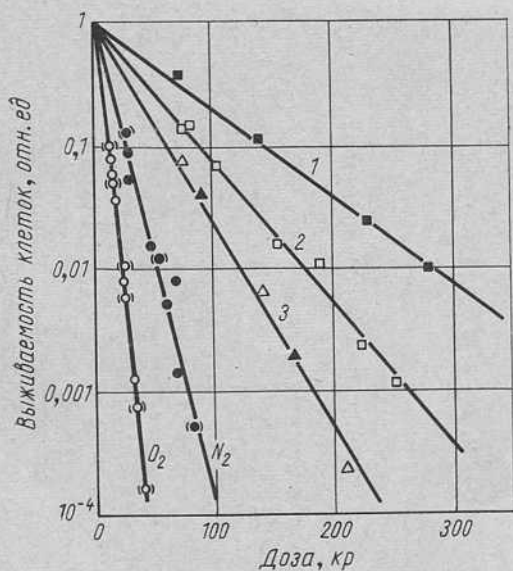


Рис. 25. Выживаемость *Staphylococcus aureus*, облученных в различных условиях [Webb, Powers, 1965]:

1 — глицерин + N_2 ; 2 — глицерин + O_2 ; 3 — высушивание O_2 или N_2 ; 4 — буфер, воздух; ○ — лиофилизация, воздух; □ — глицерин, воздух; (○) — бульканье; ● — буфер, азот; ▲ — лиофилизация, азот; ■ — глицерин, азот.

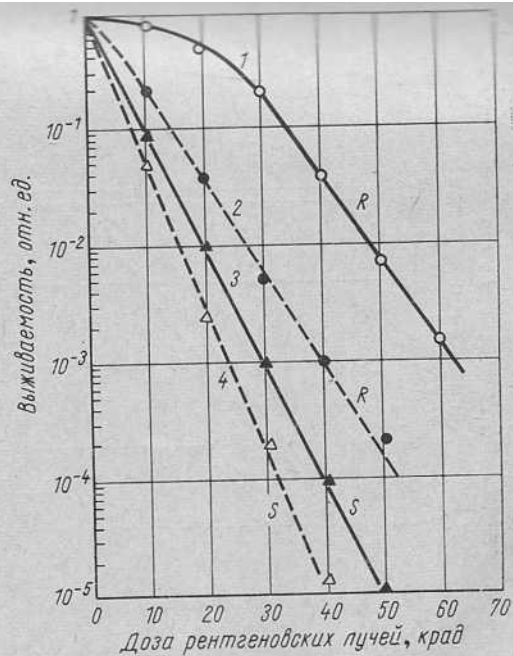


Рис. 26. Выживаемость облученных рентгеновскими лучами резистентных (R) и чувствительных (S) популяций *E. coli* B/r CSH на полной (1, 3) и минимальной (2, 4) средах [Stapleton et al., 1965].

(рис. 28). Причем такое падение радиочувствительности наблюдалось лишь в том случае, если суспензии заморозали. Если же опыты проводились с переохлажденными жидкими суспензиями при температуре ниже точки замерзания, то резкого падения радиочувствительности

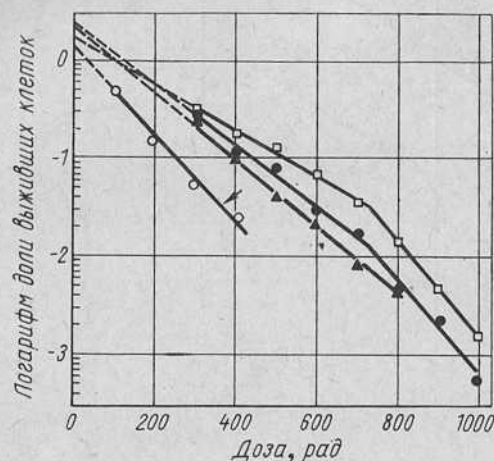


Рис. 27. Выживаемость клеток HeLa после рентгеновского облучения в различные периоды митотического цикла [Terasima, Tolmach, 1965]:
○ — M, ▲ — S, ● — G₁, □ — G₂.

не наблюдалось. Таким образом, в этих опытах изменение радиочувствительности было связано не с температурой как таковой, а с изменением агрегатного состояния объекта облучения. Иными словами, экспериментируя с жидкими или замороженными суспензиями, Вуд в действительности имел дело с различными объектами облучения — интактными и замороженными дрожжевыми клетками. Этот пример показывает, что в определенных случаях влияние сопутствующих облучению факторов может изменять сам реагирующий объект, а следовательно, и условия миграции энергии в эффективном объеме и выход регистрируемой реакции на единицу дозы.

По-видимому, аналогичная ситуация имеет место также в тех случаях, когда облучению сопутствуют такие биологические факторы, как возраст, пол, стадии

гаметогенеза, фазы мейотического и митотического циклов и т. д.

Можно ожидать, что в тех случаях, когда модифицирующее действие тех или иных факторов осуществляется главным образом за счет изменений эффективных объемов, такие факторы будут мало сказываться на «ударности» дозовых кривых.

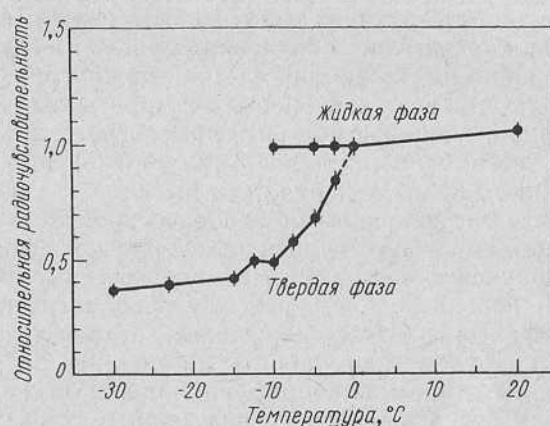


Рис. 28. Зависимость радиочувствительности дрожжевых клеток от температуры во время облучения [Wood, 1954].

Кроме изменения реагирующего объекта модифицирующие факторы могут изменять также и его реакцию на облучение. Так, например, такой экстремальный биологический эффект облучения, как смерть клетки, может быть обусловлен не одной, а многими различными причинами. При разных уровнях различных сопутствующих облучению факторов то одна, то другая из этих причин может иметь превалирующее значение и, таким образом, модификация выхода радиобиологической реакции будет определяться изменением самой реакции на облучение под влиянием сопутствующих факторов [Alper, 1960].

В подобных ситуациях можно ожидать изменения наклона и формы дозовых кривых, так как первичные механизмы различных реакций, приводящих к сходным или даже неразличимым конечным эффектам, могут различаться по «ударности».

Таким образом, действие сопутствующих облучению факторов может быть направлено либо на изменение реагирующего объекта, либо на изменение его реакции на облучение. В реальных ситуациях скорее всего осуществляется и то и другое.

Следует отметить также, что (за исключением пост-радиационных воздействий) часто бывает методически очень трудно строго определить *время действия* факторов, сопутствующих облучению. Так, например, будучи приложены до облучения, отдельные факторы могут «срабатывать» во время или даже сразу после облучения, продолжительность которого измеряется, как правило, макрофизическим временем. Это обстоятельство, несомненно, лишь затемняет общую картину и затрудняет анализ явления.

На этом мы закончим общие рассуждения о характере действия сопутствующих облучению факторов, модифицирующих выход радиобиологических реакций клеток, и перейдем к конкретному рассмотрению отдельных факторов. Поскольку книга не является обзорной, мы не будем претендовать на полноту изложения материала, а дадим для примера лишь краткие сведения о роли отдельных физических (температура), химических (кислород, защитные вещества) и биологических (стадии гаметогенеза, фазы клеточного цикла) факторов в радиобиологии клеток в той мере, в какой это необходимо для обсуждения вопроса о значении модифицирующих воздействий в анализе радиобиологических реакций клеток с позиции принципов попадания и мишени. В этой главе мы не будем касаться вопроса о пострадиационном восстановлении, которому посвящена следующая глава.

2. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Температура была, пожалуй, одним из первых факторов, возможное влияние которого на радиобиологические реакции клеток привлекло внимание радиобиологов. Интерес к температурным радиобиологическим опытам связан с тем, что определенные температурные эффекты, как и их отсутствие, могут дать важную дополнительную информацию о природе изучаемых реакций. Не удивительно поэтому, что радиобиологи проде-

дали многочисленные опыты по изучению влияния различных температурных воздействий (повышенных и пониженных температур, глубокого охлаждения и тепловых шоков), примененных до, во время или после облучения, на выход разнообразных радиобиологических реакций клеток (мутации, хромосомные aberrации, гибель и инактивация). Однако интерпретация полученных результатов связана со значительными трудностями. Прежде всего, в связи с комплексностью даже относительно простых реакций на облучение и возможностью действия температурного фактора на различных этапах формирования радиобиологических реакций очень трудно, а порой и невозможно вычленить ту ступень, на которую температура оказывает особенно сильное влияние. Далее, наблюдаемые температурные эффекты могут быть следствием связанных с температурой изменений других сопутствующих облучению факторов (например, растворимость кислорода, потребление его в клетках, обводненность протоплазмы, и др. существенно зависят от температуры). Наконец, для получения убедительных данных о влиянии температуры на выход радиобиологических реакций клеток (кстати, это касается и всех других модифицирующих воздействий) необходимо иметь данные не по единичным дозам, а получать радиобиологические дозовые кривые. Действительно, если сравниваемые дозовые кривые идут так, как это показано на рис. 3, то, исследуя действие только отдельных доз, можно прийти к прямо противоположным заключениям в зависимости от того, по какую сторону от точки пересечения кривых лежат выбранные дозы. К сожалению, температурные радиобиологические опыты далеко не всегда выполнены при достаточно широком диапазоне доз облучения. В связи со сказанным к интерпретации температурных радиобиологических опытов следует подходить с необходимой осторожностью.

Наибольшее число температурных опытов посвящено изучению различных эффектов облучения при разных температурах в диапазоне выше точки замерзания в пределах физиологической толерантности организмов. Результаты этих опытов довольно противоречивы. Однако, согласно большинству данных, понижение температуры во время облучения приводит к некоторому увели-

чению выхода конечных реакций (мутации, аберрации, гибель клеток). Более ранние из этих опытов проводили в неконтролируемых кислородных условиях; поскольку же при понижении температуры возрастает растворимость кислорода в воде и снижается его потребление в метаболических процессах, т. е. концентрация кислорода в клетках при низких температурах должна быть выше, вполне естественным было предположение Джайлса с соавторами (Giles et al., 1951) о том, что наблюдаемое увеличение выхода радиобиологических реакций при пониженных температурах связано с усилением кислородного эффекта, т. е. с улучшением условий для миграции энергии в эффективном объеме к месту действия за счет механизмов, работа которых определяется наличием в облучаемом объекте кислорода. Такое объяснение увеличения выхода реакций клеток на облучение при пониженных температурах было подкреплено специальными опытами, в которых клетки облучали либо в аноксии, либо при постоянной при всех температурах концентрации кислорода. Результаты этих опытов показали, что при облучении как в аноксии, так и при постоянной концентрации кислорода выход асимметричных обменов в клетках асцитной карциномы Эрлиха при температурах от 3 до 30° С слегка уменьшается со снижением температуры [Deschner, Gray, 1959]. Однако в микроспорах традесканции и при постоянной концентрации кислорода выход хромосомных аберраций несколько возрастал с понижением температуры при облучении в диапазоне от 0 до —40° С [Giles et al., 1951; Beatty A., Beatty J., 1959], но при облучении в атмосфере гелия, как и для асцитной карциномы Эрлиха, с понижением температуры при облучении выход аберраций слегка снижался. Таким образом, наблюдаемое иногда усиление радиобиологических реакций клеток при пониженных температурах связано, вероятно, с кислородным эффектом. Однако имеющихся данных пока явно недостаточно не только для количественной оценки и интерпретации модифицирующего действия температуры в этих случаях, но и для утверждения о достаточной общезначимости этого феномена и его качественного описания. В частности, по-видимому, нелегко с достаточной точностью поддерживать постоянную температуру в клетках при разных температурах среды, а кроме того, авторами не учитывается

с достаточной точностью относительная задержка фаз митотического цикла под влиянием облучения, температуры и комбинации этих факторов.

Кроме температур, лежащих выше точки замерзания, было проделано много опытов с облучением замороженных объектов, в том числе и при глубоком охлаждении

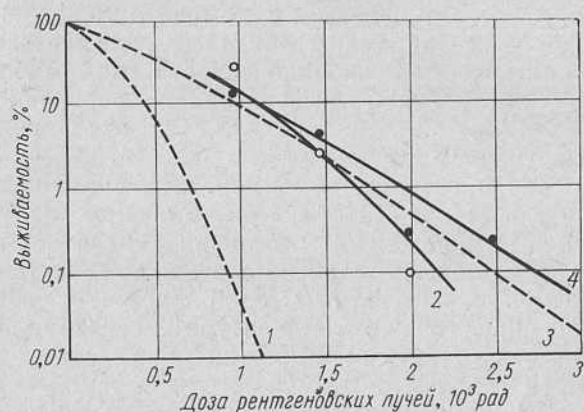


Рис. 29. Выживание клеток почки человека в культуре при их облучении в воздухе при $+20^{\circ}$ (1) и при -196° (3) и в бескислородных условиях при тех же температурах (2 и 4) [Vos, Kaalen, 1962].

(до -192°C). В этой области температур, как правило, наблюдается снижение выхода различных реакций клеток на облучение, хотя и имеются некоторые аномалии в области от -35 до -80°C . Особенно полно диапазон отрицательных температур (от 0 до -192°C) охвачен в опытах Фаберже [Fabergé, 1954], изучавшего хромосомные аберрации в митозах в пыльцевых трубках традесканции. По данным Фаберже, снижение температуры при облучении от $+25^{\circ}\text{C}$ до нуля повышает выход аберраций, при 0°C температурная кривая имеет перегиб, после чего с дальнейшим снижением температуры при облучении выход аберраций неуклонно падает и при -192°C составляет примерно половину выхода, наблюдаемого при $+25^{\circ}\text{C}$. Фаберже обнаружил также, что защитное действие глубокого охлаждения и аноксии аддитивно, что указывает на их независимость. Кроме того, по данным Воса и Калена [Vos, Kaalen, 1962] (рис. 29),

кислородный эффект при глубоком охлаждении весьма незначителен, если вообще существует (ФУД около 1,1). Таким образом, уменьшение выхода радиобиологических реакций клеток при облучении в условиях глубокого охлаждения вряд ли связано с кислородным эффектом. Не исключено, что защитное действие замораживания и глубокого охлаждения обусловлено либо «отведением» энергии от места действия с помощью какого-нибудь электронного механизма, требующего для своего осуществления известной упорядоченности системы, либо с заметным ослаблением диффузионного переноса энергии, как это уже обсуждалось в гл. 3 на основании опытов с облучением метиленовой сини. В пользу таких предположений говорят, например, уже упоминавшиеся данные Вуда [Wood, 1954] о том, что при облучении дрожжей в замороженном состоянии снижение их чувствительности определяется не столько низкой температурой, сколько агрегатным состоянием, так как при облучении при той же температуре переохлажденных суспензий чувствительность дрожжей оказывается гораздо большей (см. рис. 28).

Выход реакций на облучение может меняться и под воздействием температуры после облучения. Само собой разумеется, что в этих случаях исключено влияние температуры на облучаемый объект и на условия миграции энергии в эффективном объеме, речь может идти только о процессах восстановления клеток или проявления повреждений. Для процессов пострадиационного восстановления найдены температурные оптимумы, лежащие обычно близко к оптимальным физиологическим температурам [Корогодин, 1964; Усманов, 1964]. В следующей главе в связи с вопросом о пострадиационном восстановлении рассмотрен также пример, когда влияние температуры в пострадиационный период может быть отнесено не за счет восстановления, а за счет изменения степени проявления повреждений.

Обсуждение роли температурного фактора в реакциях клеток на облучение можно было бы значительно расширить, рассмотрев еще целый ряд других вопросов (тепловые шоки, зависимость температурных эффектов от сроков воздействия, параметров облучения и других факторов, сравнение разных радиобиологических реакций и т. д.). Однако интерпретация всех этих случаев

пока еще более неопределенна. Поэтому в заключение мы сделаем лишь два замечания. Во-первых, в температурных радиобиологических опытах с излучениями, дающими различную линейную плотность ионизации, больший по величине температурный эффект обнаруживается при облучении редкоионизирующими излучениями и, во-вторых, при одновременном учете различных результатов облучения точковые мутации обычно наименее подвержены модифицирующему действию температуры. Первое замечание является примером действия выдвинутого Квастлером (Quastler, 1960) общего принципа, что излучения с большей ЛПЭ не бывают более селективны, чем излучения с меньшей ЛПЭ. При особенно высоких ЛПЭ это может быть связано с возникновением значительно больших основных и сопутствующих повреждений, вызываемых большими скоплениями тесно расположенных ионов, а также с повышением до того невысокого ионного выхода реакции. Второе же замечание может служить одним из косвенных свидетельств (в дополнение к основным данным радиационной генетики, см. гл. 2) в пользу того, что возникновение индуцированных облучением мутаций является более или менее непосредственной реакцией на облучение.

3. ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДА

Из всех факторов, модифицирующих выход реакций клеток на облучение, особенно много внимания радиобиологи уделяли кислороду. Отдельные (обычно косвенные) данные об усилении лучевого поражения при облучении в присутствии кислорода появлялись уже в 10—20-е годы, однако широкое изучение этого явления началось после того, как Тодей и Рид [Thoday, Read, 1947] обнаружили, что присутствие кислорода при облучении приводит к резкому увеличению выхода хромосомных аберраций в клетках корневой меристемы *Vicia faba*. В результате всех проведенных после этого опытов общепризнано, что кислородный эффект является универсальным, так как он проявляется во всех изучаемых типах реакций клеток на облучение и у всех организмов. Далее, было обнаружено, что при возрастании концентрации кислорода от полной аноксии до чистого кислорода зависимость выхода радиобиологических реакций

от концентрации кислорода описывается кривой насыщения с выходом на плато при концентрации кислорода около 20%. Обнаружено также, что с возрастанием ЛПЭ применяемых излучений величина кислородного эффекта, выражаемая отношением изоэффективных доз при облучении в присутствии кислорода и в аноксических условиях, убывает, так что при облучении α -частицами кислородный эффект практически отсутствует. На основании первых опытов многие радиобиологи придерживались также взгляда, что во всех радиобиологических реакциях максимальная величина кислородного эффекта примерно одинакова и близка к *трём*. Наконец, весьма существенными были также результаты опытов Джайлса и Райли [Giles, Riley, 1950], в которых показано, что для образования аберраций в микроспорах традесканции кислород эффективен лишь в том случае, если он присутствует в момент облучения: при введении кислорода в среду непосредственно после облучения кислородного эффекта у этого объекта не обнаружили.

Довольно продолжительное время многие радиобиологи считали, что само наличие кислородного эффекта и особенности его проявления являются очень вескими доводами в пользу того, что в инициации радиобиологических реакций клеток основная роль принадлежит продуктам радиолиза воды. При облучении в присутствии кислорода особая роль отводилась радикалу HO_2 и перекисям, которые и считались непосредственными агентами, повреждающими те или иные клеточные структуры.

Однако с течением времени стали накапливаться данные, показывающие, что такая интерпретация далеко не совершенна. Прежде всего, поскольку в клетках содержится большое число разнообразных низкомолекулярных веществ, те расстояния, которые радикалы могут проходить в такой среде, очень невелики по сравнению с расстояниями между макромолекулами. Так, по расчетам Хатчинсона [Hutchinson, 1957], при средних расстояниях между молекулами белков около 700 Å расстояние, которое могут пройти радикалы в клетке, составляет всего около 38 Å. Следовательно, если продукты радиолиза воды, образующиеся в присутствии кислорода, и имеют значение в кислородном эффекте, то их количественный вклад в этот эффект не может

быть большим. Далее обнаружили, что кислородный эффект проявляется не только в сильно обводненных, но и в сухих системах, таких, как кристаллические препараты белков, семена растений, споры бактерий. Особенно тщательно такие опыты были проделаны Пауерсом и Боагом на спорах бактерий [Powers, Boag, 1959]. Проявление выраженного кислородного эффекта в сухих системах уже никак не укладывается в рамки гидропероксидной гипотезы механизма этого эффекта. Однако истинный его механизм все еще остается далеко не ясным.

В частности, долгое время господствовавшее представление, что кислородный эффект проявляется только в том случае, когда кислород присутствует в облучаемом объекте во время облучения, также оказалось не общим правилом. В некоторых случаях, например, на покоящихся семенах растений было обнаружено, что при облучении в анаэробических условиях конечный выход реакции зависит от того, в аэробных или анаэробных условиях замачиваются семена для проращивания после облучения, как это показано на рис. 19 [Caldecott, 1958]. Такое кислородное последствие обнаружил также Пауерс и в опытах со спорами бактерий. Наличие кислородного последствия указывает, что возможной «точкой приложения» кислорода является не момент облучения, а ранние этапы формирования радиобиологических реакций, следующие после облучения. С другой стороны, при более позднем применении кислород не только не увеличивает, но, наоборот, может даже уменьшать выход реакций клеток на облучение, способствуя процессам пострадиационного восстановления [Корогодин, 1966].

Для объяснения механизма кислородного эффекта с учетом последствия Л. Х. Эйдуз [1964] предложил схему, которая также учитывает то обстоятельство, что при лучевых повреждениях макромолекул *in vitro* для обнаружения кислородного эффекта необходимо наличие примесей в системе. Согласно этой схеме, действие кислорода сводится к дезактивации возникающих при облучении «репарирующих» радикалов примеси. Из-за отсутствия экспериментальных данных эти «репарирующие» радикалы остаются пока гипотетическими. Во всяком случае, они должны находиться в непосредственной близости от места действия, так как по данным о снятии

кислородного эффекта при определенных условиях инертными газами под давлением [Ebert et al., 1958; Паррибок и Вальдштейн, 1964] усиление лучевого поражения может вызвать лишь кислород, локально связанный с повреждаемыми структурами.

Здесь уместно отметить, что в радиобиологических опытах с кислородом имеется ряд чисто методических трудностей; например, вряд ли возможно резкое изменение (за очень короткий промежуток времени) внутриклеточной концентрации кислорода или полное удаление микроконцентраций локально связанного кислорода, особенно в сухих системах. Кроме того, если экспозиции не моментальны, то очень трудно дифференцировать действие кислорода во время и после облучения. Поэтому к интерпретации данных о резком изменении действия кислорода при введении его в среду сразу после облучения, о значении локально связанного кислорода и т. п. следует подходить с необходимой осторожностью.

4. ВЛИЯНИЕ РАДИОЗАЩИТНЫХ ВЕЩЕСТВ

В настоящее время известно очень большое число органических и неорганических веществ, присутствие которых во время облучения снижает выход различных радиобиологических реакций клеток. Химическая защита наряду с кислородным эффектом и так называемым эффектом разведения обычно считалась наиболее важными доказательствами того, что в лучевых повреждениях клеток основная роль принадлежит продуктам радиолиза воды, к конкуренции за которые и сводится механизм химической защиты.

Мы уже видели, что целый ряд особенностей кислородного эффекта не укладывается в рамки так называемой гипотезы непрямого действия. Эффект разведения нельзя проверить непосредственно на биологических системах *in vivo*. Что же касается химической защиты, то и в этом случае имеются данные, показывающие, что гипотеза о конкуренции за активные радикалы — продукты радиолиза воды — вряд ли в достаточной мере обоснована. Эти-то три довода и рассматриваются часто как основные возражения против применения в радиобиологии принципов попадания и мишени.

Прежде всего, для эффективной инактивации продуктов радиолитиза воды протекторы должны накапливаться в клетках в относительно очень высоких концентрациях и иметь большее по сравнению с компонентами клетки сродство к радикалам воды. Известно же, что концентрации протекторов в клетках, обеспечивающие эффективную защиту, в действительности малы, и едва ли способность этих веществ реагировать с радикалами значительно выше, чем у ряда клеточных метаболитов, всегда присутствующих в несравненно больших концентрациях. Далее опыты по изучению защитного действия цистеина при различных температурах, проведенные на *E. coli*, показали, что при облучении в присутствии этого протектора при температуре $0,1^{\circ}\text{C}$ эффект защиты проявляется только в том случае, если перед облучением бактериальную суспензию с цистеином подогревали до 22°C хотя бы 15 минут [Kohn, Gunter, 1959]. Если же инкубацию перед облучением проводили тоже при $0,1^{\circ}\text{C}$, то защита отсутствовала. Эти данные говорят о том, что протектор должен не только попасть в клетку, но вслед за этим должно осуществиться какое-то изменение, невозможное или сильно замедленное при низкой температуре. Против гипотезы о простой конкуренции за радикалы говорят также данные о том, что при облучении растворов полимеров гораздо более эффективную защиту можно получить при химическом соединении облучаемого субстрата с протектором, чем при их механическом, даже очень тщательном, перемешивании. Таким образом, для объяснения феномена химической защиты требуются иные представления.

По природе своей защитные вещества разнообразны, в связи с чем было предпринято много попыток найти какое-либо их общее свойство, чтобы объединить их действие единым механизмом. В этом отношении очень интересные данные получены Г. В. Сумаруковым (1963), который обнаружил, что эффективность испытанных им 50 радиозащитных веществ очень хорошо коррелирует (коэффициент корреляции равен 0,8) с тем сдвигом (в отрицательную сторону) окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) тканей *in vivo*, который вызывается введением этих протекторов. Кроме того, Г. В. Сумаруков обнаружил, что и при защите гипоксией соответствующее снижение радиочувствительности гораздо

лучше коррелирует со сдвигом ОВП тканей, чем с концентрацией кислорода в них, причем гипоксия, как и защитные вещества, снижает ОВП тканей. Длительность сохранения низкого ОВП тканей соответствует продолжительности защитного действия протекторов. Что же касается окислительно-восстановительных потенциалов изученных *веществ*, то связи между их величиной и защитным действием этих веществ установить не удастся. При этом вещества с более низким ОВП в растворе могут быть плохими протекторами и вызывать очень малое снижение (или даже возрастание) ОВП тканей. Эти данные позволяют предположить наличие общего механизма защитного действия различных веществ, а также гипоксии или аноксии, связанного с накоплением в клетке сильных восстановителей эндогенного происхождения. В связи с наблюдениями Э. Я. Граевского с сотрудниками (1966) о роли эндогенных SH-групп в противолучевой защите можно предположить также, что такими восстановителями служат сульфгидрильные группировки. Их возможная роль в защите «места действия» радиобиологических реакций с помощью интра- или интермолекулярного «отведения» от него энергии, т. е. сокращения эффективного объема, подтверждается также данными о том, что при облучении серусодержащих высокомолекулярных соединений возникает непропорционально большое число парамагнитных центров SH-типа [Gordy, Shields, 1960; Henriksen, 1962].

5. ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Рассмотренные выше случаи модификации радиобиологических реакций клеток под воздействием температуры, кислорода, ряда химических протекторов представляют собой лишь очень малую выборку из обширных данных о влиянии разнообразных физических и химических факторов на выход радиобиологических реакций. Полнее рассматривать этот вопрос вряд ли целесообразно в настоящее время.

В этом небольшом разделе мы рассмотрим также (если не еще более) схематично влияние некоторых биологических сопутствующих факторов на выход радиобиологических реакций клеток. Прежде чем перейти непосредственно к такому рассмотрению, уместно отме-

тить, что влияние многих биологических факторов может быть обусловлено различиями в физико-химических внутриклеточных условиях. Так, например, известно, что клетки различных тканей или в различных фазах клеточного цикла могут заметно различаться степенью обводненности, внутриклеточной концентрацией кислорода, уровнями содержания различных метаболитов и т. д., а все эти факторы способны заметно модифицировать выход радиобиологических реакций. Таким образом, различия в реакциях клеток на облучение, наблюдаемые при разных «биологических» условиях облучения, могут быть вызваны различиями в физико-химических характеристиках облучаемых объектов.

Из различных биологических факторов, сопутствующих облучению, мы рассмотрим для примера различные стадии гаметогенеза и различные фазы митоза и мейоза.

Для изучения выхода мутаций при лучевых воздействиях на разные фазы гаметогенеза проводят обычно опыты двух типов: облучение объекта в разные возрастные периоды, для которых известны преобладающие стадии гаметогенеза, например у дрозофилы облучают личинок, предкуколок, 48-часовых куколок, имаго, и облучение взрослых особей с последующим дробным использованием порций гамет, соответствующих определенным стадиям гаметогенеза в момент облучения. Каждый из этих двух типов опытов имеет свои преимущества, но их общим недостатком является неизбежное нарушение под действием облучения общего хода гаметогенеза, причем различное при разных дозах. Характерный результат опытов первого типа приведен на рис. 30 [Purdom, 1963]. Однако эти данные также недостаточны для однозначной интерпретации, поскольку наблюдаемое увеличение выхода мутаций при переходе от ранних стадий сперматогенеза к поздним может быть обусловлено, по крайней мере, тремя различными причинами: действием зачаткового отбора, дифференциальной радиочувствительностью отдельных стадий и процессами восстановления. Выбор между этими тремя возможностями пока довольно условен из-за недостатка данных специальных опытов, позволяющих оценить вклад каждого из этих механизмов. Отметим, что ни один из этих механизмов не противоречит принципам попадания и мишени. В частности, дифференциальная

чувствительность различных стадий может быть понята как изменение условий миграции энергии в эффективном объеме, определяемое особенностями хромосом, ядер и клеток в целом на этих стадиях.

Что касается выхода реакций клеток на облучение при лучевом воздействии в разных фазах клеточного



Рис. 30. Частота мутаций у дрозофилы при облучении в разных стадиях сперматогенеза [Purdom, 1963]:

I — зрелые спермии; II — поздние сперматиды; III — ранние сперматиды; IV — мейоз; V — сперматоциты; VI — первичные и вторичные сперматогонии.

цикла, то и здесь нет полного согласия между данными разных авторов, особенно при использовании разных объектов и разных реакций на облучение. На рис. 31 приведены примеры выхода различных реакций клеток на облучение в разных фазах цикла [Корогодин, 1964]. На рисунке видно, что для различных реакций максимум выхода может соответствовать облучению в разные периоды интерфазы или фазы митоза. Уже это, при сходстве ряда реакций, делает интерпретацию таких данных затруднительной. Еще большие трудности встречаются при сопоставлении противоречивых данных разных авторов о ходе одних и тех же реакций у различных объектов. При общей однотипности процессов митоза и мейоза у разных объектов трудно ожидать для них существенных различий в относительной чувствительности фаз этих циклов, определенной по одному и тому же критерию. Скорее эти различия связаны с неточностью определения фаз. С появлением H^3 -тимидина экспериментальные возможности более точного определения предсинтетического, синтетического и постсинтетического

го периодов интерфазы значительно возросли. Поэтому, сочетая биохимические методы определения фаз с морфологическими, можно получать достаточно убедитель-

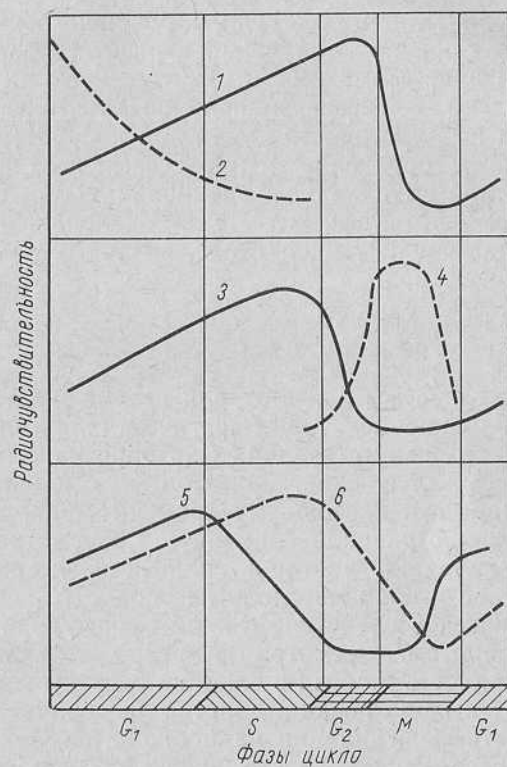


Рис. 31. Зависимость степени проявления разных последствий облучения от фазы митотического цикла клеток при лучевом воздействии [по данным разных авторов; В. И. Корогодин, 1964]:

1 — задержка деления; 2 — подавление синтеза ДНК; 3 — «структурные» изменения хромосом; 4 — «физиологические» изменения хромосом; 5 — рецессивные летальные мутации; 6 — инактивация и гибель.

ные данные, особенно при использовании удобных объектов и снятии дозовых кривых, как это показано на рис. 20 из работы Баллардини и Металли, использовавших в качестве объекта облучения *Artemia salina* с есте-

ственно синхронным мейозом и снявших четкие кривые для доминантных леталей (гибели зародышей). Однако данных такого рода пока крайне мало. Следует отметить также, что и получение четких дозовых зависимостей позволяет лишь обнаружить различный выход изучаемой реакции при облучении в разных фазах цикла, но еще не дает возможности судить, имеем ли мы дело действительно с дифференциальной чувствительностью отдельных фаз клеточного цикла или получаемая картина во многом определяется процессами пострadiaционного восстановления. Лишь специальные опыты, позволяющие выделить эффекты восстановления, о которых речь пойдет в следующей главе, могут дать основание для такого выбора.

6. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

В этой главе мы рассмотрели весьма кратко и схематично влияние некоторых физических, химических и биологических сопутствующих факторов на выход реакций клеток на облучение; при этом мы выбрали те примеры, которые к настоящему времени могут считаться наиболее полно разработанными. Из рассмотрения этих примеров вытекают уже два важных следствия — одно методическое и одно методологическое.

Методическое следствие можно сформулировать следующим образом. Несмотря на разрозненность и даже противоречивость данных о влиянии сопутствующих факторов на выход реакций клеток на облучение, сама возможность модификации радиобиологических реакций является несомненной. А это значит, что наличие такой модификации необходимо учитывать при интерпретации радиобиологических данных и при различных теоретических построениях.

Второе, методологическое, следствие можно сформулировать таким образом. Экспериментальные данные о модификации выхода реакций клеток на облучение дают важную дополнительную информацию об интимных особенностях процессов, развертывающихся между первичной абсорбцией энергии и конечным эффектом. Поэтому изучение влияния сопутствующих факторов на выход радиобиологических реакций должно служить важным инструментом в познании как различных этапов формиро-

вания радиобиологических реакций, так и первичных пусковых механизмов этих реакций.

К сожалению, попыток такого анализа особенностей первичных механизмов, основанного на изучении модификации выхода конечных эффектов, пока почти нет. Мы можем привести в качестве почти единственного примера работу Н. В. Лучника (1963), который предложил аналитический способ определения числа первичных повреждений хромосом, основанный на анализе пострадиационного восстановления и особенностях распределения регистрируемых повреждений по клеткам. И хотя конкретные детали такого анализа могут быть дискуссионными, несомненно одно, что сам принцип подхода к проблеме — анализ первичных событий на основе особенностей формирования и проявления радиобиологических реакций — является весьма плодотворным. И именно в этом направлении следует ожидать новых успехов в анализе первичных пусковых механизмов радиобиологических реакций клеток с позиций принципов попадания и мишени. Для этого потребуются разработка специальных схем опытов и проведение теоретических изысканий, позволяющих получать дифференциальные количественные оценки вклада отдельных этапов формирования радиобиологических реакций в конечный регистрируемый эффект.

ПРИНЦИП ПОПАДАНИЯ И ПОСТРАДАЦИОННОЕ
ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК

1. ВВОДНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

В гл. 3 мы отмечали, что модификация эффективности облучения различными факторами, действующими в пострadiaционный период, может осуществляться по меньшей мере двумя путями: 1) восстановлением клеток от повреждений соответствующих структурных единиц (ответственных за данную единицу реакции) и 2) предотвращением проявления («непроявление») повреждений при сохранении числа первично поврежденных элементарных структур. В тех экспериментах, в которых облученные объекты помещают в различные условия культивирования и затем регистрируют различия в эффекте данной дозы, отнюдь не просто решить, имеют ли место оба эти способа модификации или только один из них, и какой именно. Так, например, выращивая облученные бактерии *E. coli*, штамм В, на средах разного состава или при разных температурах, можно получить четкие различия в соответствующих кривых выживания (рис. 32, а). Казалось бы, этот феномен можно трактовать как «эффект восстановления». Именно так склонны объяснять аналогичные результаты своих экспериментов некоторые авторы [Холлендер, Степльтон, 1958; Alper, Gilli, 1960; Вальдштейн и Жестяников, 1963]. Однако у *E. coli* данного штамма вариации в выживании облученных клеток, выращиваемых в различных условиях, часто сопровождаются вариациями в числе колоний, образующихся в этих же условиях из необлученных клеток, причем чем меньше вырастает колоний в контроле, тем более низким оказывается и уровень выживания в опытной группе (рис. 32, б). На рисунке выживаемость облученных клеток выражена в процентах контроля, культивировавшегося на мясо-пептонном агаре (МПА) при 37° С, а степень неблагоприятности среды (СНС) — в виде отношения числа колоний, образующихся из данного количества необлученных клеток на МПА при 37° С,

к числу колоний, образующихся из такого же количества необлученных клеток на другой среде или при другой температуре. Этот феномен свидетельствует как будто в пользу предположения, что в подобных случаях разли-

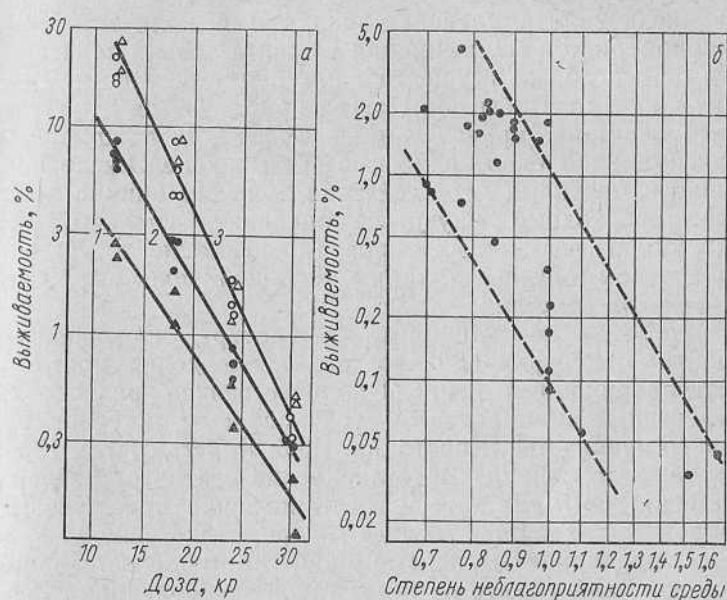


Рис. 32. Зависимость выживаемости облученных бактерий *E. coli* В от условий культивирования до и после облучения [Мясник, Корогодин, 1967; Korogodin et al., 1966].

а — кривые доза—эффект при культивировании на разных средах; б — зависимость выживаемости облученных (20 кр) бактерий от степени неблагоприятности среды. 1 и 3 — до облучения на сусло-агаре; 2 и 3 — то же, на рыбкокостном агаре; 1 и 2 — после облучения на мясо-пептонном агаре; 3 — то же, на синтетической среде М9.

чия в выживании облученных клеток в разных условиях обуславливаются не столько восстановлением, сколько отбором [Korogodin et al., 1966; Мясник и Корогодин, 1967].

В гл. 3 мы уже отмечали, что «места приложения» каждого из двух возможных типов модификации эффективности облучения — восстановления и не проявления — должны быть различны: эффект восстановления, по определению, должен быть направлен на «места действия»,

испытывавшие изменения вследствие попаданий в соответствующие эффективные объемы, а не проявление — на осуществление последующих звеньев цепи событий, связывающих поврежденные места действия с сформированием регистрируемых конечных стадий единиц реакций. Можно ожидать, следовательно, что и количественные закономерности модификации эффекта дозы в зависимости от способа ее осуществления будут различны. Значит, для того чтобы попытаться приблизиться к получению «чистой» кривой доза — эффект, т. е. кривой, с максимальной однозначностью связывающей число первично измененных мест действия с числом единиц реакций, необходимо научиться оценивать удельный вес каждого из возможных типов модификации в каждом конкретном случае, а также количественно выражать степень их действия.

Несмотря на обширную литературу, посвященную проблеме модификации лучевого повреждения клеток в пострадиационный период, количественная разработка намеченных выше аспектов этой проблемы, по существу, только начинается [Корогодин, 1966; Rupert, Harm, 1966; см. также сборники «Восстановление клеток от повреждений», 1963 и «Защита и восстановление при лучевых повреждениях», 1966]. Точнее говоря, к настоящему времени предприняты первые попытки количественного анализа лишь одного из типов такой модификации — эффекта восстановления, и делаются лишь первые шаги в направлении создания экспериментального и математического подходов к оценке роли восстановления в общем модификационном эффекте. Поэтому мы и ограничимся изложением в этой главе применения принципа попадания к анализу только эффекта восстановления. Мы рассмотрим два типа восстановления: «темновое» восстановление (dark recovery) после ионизирующих излучений и фотореактивацию (photoreactivation) после действия ультрафиолетовых лучей; второй тип восстановления будет рассмотрен лишь для сопоставления с первым, хотя он и представляет самостоятельный интерес, выходящий за пределы применения принципа попадания в радиобиологии.

В наиболее «чистом» виде эффект восстановления можно получить, задерживая искусственно размножение облученных клеток в течение того или иного интервала

времени, а затем инкубируя (для проявления и регистрации последствий облучения) эти клетки в некоторых стандартных условиях. Например, облученные ионизирующими или ультрафиолетовыми лучами бактерии *E. coli* можно поместить на питательную среду, содержащую антибиотик хлорамфеникол (в этих условиях синтез белка обратимо подавлен и клетки не размножаются), а затем перенести их на такую же, но лишенную хлорамфеникола, питательную среду; при этом в ряде случаев можно зарегистрировать увеличение выживания бактерий и уменьшение выхода мутаций [Gillies, Alper, 1959; Kada, 1965]. Дрожжи, облученные ионизирующими излучениями, можно выдерживать перед посевом на питательную среду в буферном растворе или в простой водопроводной воде, и вследствие этого также будет происходить увеличение выживания и уменьшение выхода мутаций [Арман, 1966; Корогодин, 1966]. Аналогичные способы получения темнового восстановления применимы к инфузориям [Kimball, 1957], клеткам млекопитающих в культуре [Бурлакова и Пархоменко, 1966] и некоторым другим объектам.

В опытах по фотореактивации облученные ультрафиолетом клетки или организмы подвергают воздействию интенсивного потока видимого света, что, как правило, приводит к уменьшению последующего проявления самых различных эффектов облучения. Насколько можно судить по литературным данным, фотореактивация может наблюдаться для всех тех последствий ультрафиолетового облучения и у всех тех объектов, которые в этом отношении достаточно тщательно изучены.

Фотореактивация не эффективна после действия ионизирующих излучений. Темновое же восстановление, напротив, уменьшает различные биологические последствия облучения не только ультрафиолетовыми лучами и ионизирующими излучениями малой плотности типа γ - и жестких рентгеновских лучей, но и повреждения, вызываемые тяжелыми ионами (излучения, создающие очень высокую удельную плотность ионизации) и даже некоторыми химическими агентами [Корогодин, 1966; Медведева и др., 1964; Lyman, 1965]. В этом отличие темнового восстановления от фотореактивации. Объединяет же эти типы восстановления то, что оба они являются метаболическими процессами, требующими опреде-

ленного температурного режима. Оба они осуществляются на биохимическом уровне, а не на физическом, химическом или физико-химическом уровнях, что обычно для тех случаев модификации, которые были рассмотрены в предыдущей главе в качестве примеров воздействий, влияющих на величину эффективного объема. С другой стороны, и темновое восстановление, и фотореактивация, когда они происходят при инкубации облученных объектов в непитательной среде (при строгом постоянстве условий их последующего культивирования, сводящем к минимуму вариабельность в проявлении сохранившихся первичных повреждений), могут затрагивать судьбу только первичных элементарных повреждений, не воздействуя на ход дальнейшего развития лучевого поражения.

Вопрос о количественных закономерностях темнового восстановления и фотореактивации можно сформулировать следующим образом: 1) что служит элементарным событием восстановления — восстановление одной клетки в целом от всех содержащихся в ней дискретных повреждений по принципу «всё или ничего» (клеточный тип восстановления) или же восстановление клеток от отдельных дискретных повреждений (постепенный или локальный тип восстановления)? и 2) как осуществляется процесс восстановления во времени после облучения клеток разными дозами? В качестве показателя реакции клеток на облучение для анализа проблемы восстановления в этом плане удобно использовать летальный эффект, а в качестве объекта — диплоидные (или полиплоидные) дрожжи [Корогодин, 1966].

2. ПРЕДПОСЫЛКИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ЯВЛЕНИЙ ВОССТАНОВЛЕНИЯ С ПОЗИЦИЙ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ

Зависимость выживаемости S дрожжей от величины дозы D при облучении их ионизирующим или ультрафиолетовым излучением изображена на рис. 33, *а* и *б*, кривые 1 и 4; в полулогарифмическом масштабе такие кривые выживания имеют форму нисходящих прямых с изогнутым верхним отрезком. В обоих случаях, изображенных на рис. 33, экстраполяционные числа относительно велики (для γ -квантов $n \approx 10$, а для ультрафиолетовых $n \approx 70$). Тот факт, что с ростом дозы (выше

определенной величины) выживание клеток убывает экспоненциально, свидетельствует о локальной природе пусковых событий, ответственных за регистрируемый эффект. В данных случаях подобными пусковыми собы-

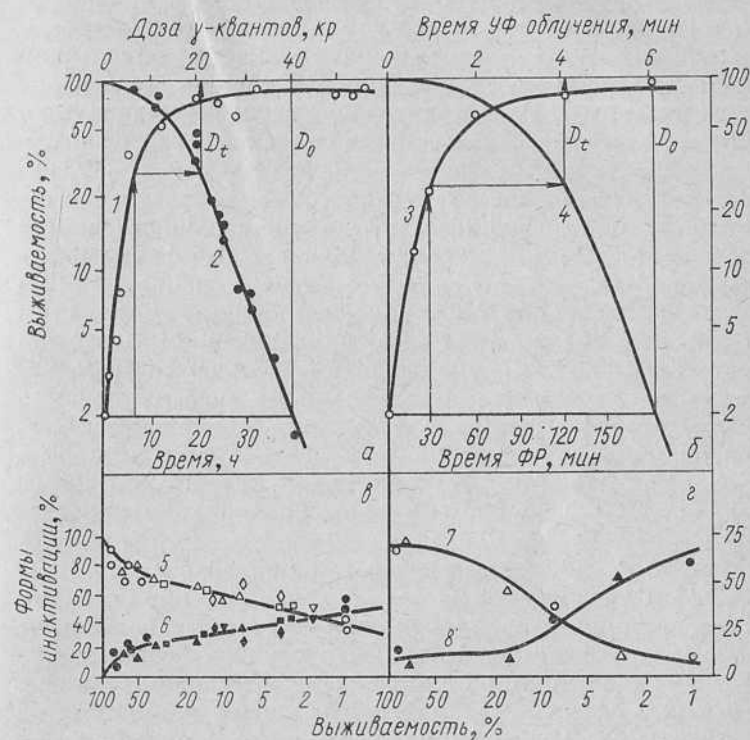


Рис. 33. Кривые выживания и восстановления дрожжей *S. vini*, Мегри 139-В, пораженных γ -квантами (а и в) и ультрафиолетовыми лучами (УФ) (б и г) [Кабаков, 1964; Корогодин, 1965]: 1 — темновое восстановление; 2 и 4 — кривые выживаемости; 3 — фотореактивация (ФР) (стрелками показан способ расчета эффективных доз); кривые 5, 6, 7 и 8 описывают зависимость от выживаемости содержания на препаратах 1 и 2-й (в) и 1 и 3-й (г) форм инактивации после облучения дрожжей γ -квантами (в) и УФ-лучами (г); разными значками около этих кривых показано изменение соотношения форм инактивации в ходе темнового восстановления (в) и фотореактивации (г) после облучения клеток разными дозами.

тиями могут служить повреждения генетических структур клеток — генов и хромосом. С другой стороны, тот факт, что соответствующие дозовые кривые имеют значительно превышающие единицу экстраполяционные

числа, свидетельствует о том, что для осуществления единицы реакции (гибель или инактивация одной клетки) в данных случаях требуется несколько попаданий.

Если допустить, что летальный эффект (инактивация клетки) наступит при поражении вследствие попаданий нескольких мишеней, то можно ожидать, что степень выраженности этого эффекта у разных клеток облученной популяции может быть различной и должна зависеть от величины дозы. И действительно, изучение микроколоний, образующихся в течение суток при 30° С из облученных дрожжей, посеянных на питательную среду, показало, что утратившие способность к «бесконечному» размножению (погибшие) клетки инактивируются или после трех — семи циклов размножения (1-я форма инактивации *M1*), или после одного-двух почкований (2-я форма инактивации *M2*), или без попыток к делению (3-я форма инактивации *M3*). С увеличением дозы, наряду с постепенным уменьшением выживаемости *S*, наблюдается увеличение, а затем уменьшение содержания в популяции 1-й формы инактивации, сменяющееся увеличением содержания 2-й формы, на смену которой с дальнейшим ростом дозы приходят клетки 3-й формы инактивации. Такая смена форм инактивации происходит и при действии ионизирующих излучений и при действии ультрафиолетовых лучей (см. рис. 33, *в* и *г*).

Будем теперь рассуждать следующим образом. Согласно принципу попадания, при облучении, вследствие дискретного взаимодействия излучений с веществом, в клетках повреждаются мишени, ответственные за летальный эффект, — возникают первичные элементарные повреждения. Число таких повреждений распределено по клеткам случайно. Если, например, это распределение подчиняется закону Пуассона, то в случае, когда одно попадание вызывает одно элементарное повреждение, при дозе D_1 , при которой в среднем на клетку приходится 1 повреждение, 37% клеток не получают ни одного повреждения, 37% — только по одному повреждению, 18% — по два повреждения и т. д., а при дозе D_2 , соответствующей трем повреждениям на клетку (в среднем), ни одного повреждения не получают 5% клеток, одно повреждение — 15%, два — 22% и т. д. Следовательно, каждой дозе соответствует определенное количество (процент) клеток, получивших данное число поврежде-

ний. Если, далее, считать, что клетки, получившие от 0 до некоторого числа i повреждений, еще не утрачивают способности к бесконечному размножению (класс S), клетки, имеющие от $i+1$ до j повреждений, образуют 1-ю форму инактивации, от $j+1$ до k — 2-ю форму инактивации и т. д., то отсюда можно сделать заключение, что соотношение форм инактивации при разных дозах облучения, отнесенное к величинам S (однозначно связанным с дозами), как показано на рис. 33, *в* и *г*, однозначно отражает структуру распределения разного числа элементарных повреждений по клеткам после облучения их в разных дозах.

Итак, после облучения дрожжей некоторой дозой D_0 доля выживших составляет S_0 при определенном соотношении $M1$ -, $M2$ - и $M3$ -форм инактивации. Если такие клетки сразу после облучения поместить в режим восстановления — в водопроводную воду при 30°C при действии ионизирующих излучений, а при облучении ультрафиолетовыми лучами под интенсивный поток видимого света, — то жизнеспособность клеток будет возрастать со временем t так, как показано на рис. 33, *а* и *б* (кривые 1 и 3). Сопоставляя возрастание S с изменением соотношения форм инактивации, можно решить вопрос о том, происходит ли процесс восстановления по клеточному или по локальному типу.

Если облученные дрожжи восстанавливаются по клеточному типу, т. е. если испытывающая восстановление клетка освобождается от всех содержащихся в ней элементарных повреждений, то с повышением в ходе восстановления доли выживших клеток S количество клеток, относящихся к любой из форм инактивации — $M1$, $M2$ и $M3$, — может либо уменьшаться, либо оставаться постоянным, но никогда не будет возрастать [Корогодин, 1966]. В действительности же при использовании достаточно высоких доз облучения уменьшение наблюдается лишь для клеток, относящихся к формам инактивации, соответствующим максимальной степени пораженности; число же клеток, слабее пораженных излучениями ($M1$ для ионизирующих и $M1$ и $M2$ для ультрафиолетовых лучей), в начале восстановления увеличивается и лишь позднее начинает убывать. Это означает, что пораженные излучениями клетки лишь *постепенно* восстанавливаются от содержащихся в них эле-

ментарных повреждений. При этом, как показано на рис. 33, *в* и *г*, при восстановлении дрожжей после действия на них ионизирующих излучений [Корогодин, 1966] и при фотореактивации [Кабаков, 1964] зависимость соотношения форм инактивации от уровня выживания изменяется таким же образом, как и при облучении клеток соответственно меньшими дозами. Это обстоятельство означает, что при уменьшении в ходе восстановления среднего количества повреждений на клетку распределение числа этих повреждений по отдельным клеткам остается случайным, примерно таким же, как и распределение повреждений, возникающих в клетках непосредственно под воздействием меньших доз излучений.

Последнее положение чрезвычайно важно, и мы хотим особенно его подчеркнуть. Было проведено несколько серий исследований, посвященных проверке различных следствий из этого положения, и пока еще не получено противоречащих данных [Корогодин, 1966]. В частности, установлено, что зависимость соотношения форм инактивации от величины S имеет один и тот же характер как после однократного облучения дрожжей разными дозами, так и после облучения разными дозами клеток, предварительно уже облучавшихся и испытавших восстановление [Капульцевич, 1966]. Можно считать поэтому, что гипотеза, согласно которой в ходе рассматриваемых типов восстановления происходит такое же изменение распределения элементарных повреждений по клеткам, как и при соответствующих уменьшениях дозы, хорошо отражает действительное положение вещей.

Из вышесказанного вытекают следующие выводы, имеющие принципиальное значение для обсуждаемой в этой главе проблемы: 1) элементарными единицами восстановления служат отдельные элементарные повреждения — последствия дискретных попаданий; 2) процесс восстановления приводит к уменьшению среднего содержания в клетках числа элементарных повреждений, что эквивалентно уменьшению полученной клетками дозы облучения; 3) мерой величины восстановления является изменение величины эффективной дозы [Корогодин, 1966; Кабаков и Корогодин, 1966].

Эти выводы в одинаковой мере относятся и к темновому восстановлению клеток от повреждений ионизирующими излучениями, и к фотореактивации клеток,

пораженных ультрафиолетом. Следовательно, в обоих случаях процесс восстановления можно выражать уменьшением со временем эффективной дозы, так как показано на рис. 34, *a* и рис. 35, *a*. В этом проявляется сходство обеих этих форм восстановления.

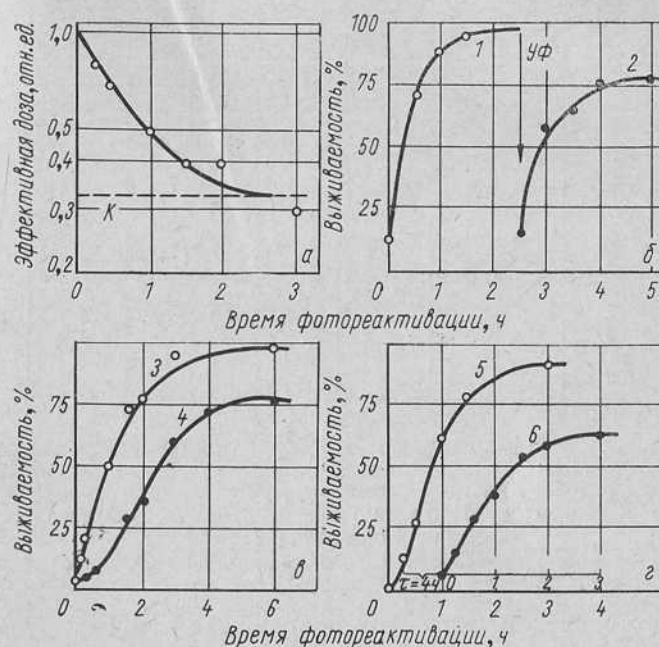


Рис. 34. Динамика фотореактивации УФ-облученных дрожжей; разные схемы опытов [Кабаков, Корогодин, 1966]:

a — кривая фотореактивации, изображенная на рис. 33, *б*, выражена в форме уменьшения эффективной дозы; *б* — эффективность фотореактивации после первого (1) и второго (2) облучения ультрафиолетовыми лучами; *в* — динамика фотореактивации при интенсивности видимого света 17 000 лк/см² (3) и 6000 лк/см² (4); *г* — динамика фотореактивации тотчас после облучения ультрафиолетовыми лучами (5) и после 4-х часового выдерживания облученных ультрафиолетовыми лучами клеток в темноте (при 30° С), (6).

Выбор меры восстановления, сделанный выше, не позволяет еще судить о количественных закономерностях этого процесса. Действительно, в обоих рассматриваемых случаях восстановление никогда не идет до конца — кривые восстановления имеют плато, свидетельствующее о наличии необратимого компонента лучевого пораже-

ния; этот необратимый компонент может формироваться как во время облучения, так и в пострadiaционный период. Далее, клетки во время пострadiaционного культивирования могут утрачивать способность к восстановлению — а мы не знаем, когда это происходит. Наконец,

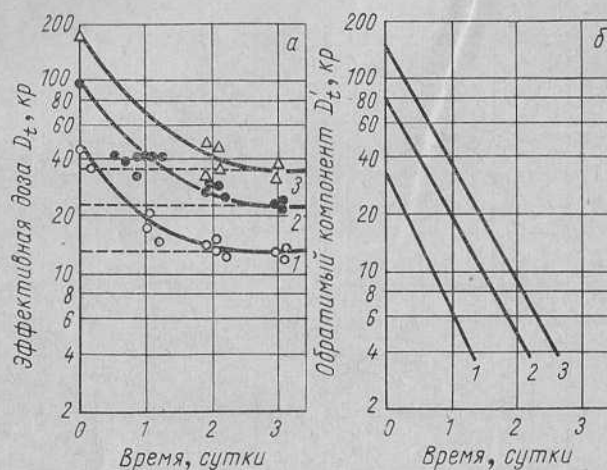


Рис. 35. Кинетика восстановления жизнеспособности дрожжей *S. vini* Мегри 139-В, облученных γ -квантами [по: Корогодина, 1966]:

a — уменьшение эффективной дозы; *b* — уменьшение обратимого компонента лучевого поражения. Доза облучения: 1 — 44 кр; 2 — 97 кр; 3 — 177 кр.

восстановление клеток от повреждений может зависеть от числа (содержания) таких повреждений в клетке и от общей дозы облучения. Чтобы ответить на эти вопросы, требуется проведение специальных исследований, постановка опытов по специальным схемам, к изложению которых мы и переходим. Ввиду того что в отношении этих особенностей восстановления клетки, пораженные ультрафиолетовыми лучами и ионизирующими излучениями, ведут себя по-разному, результаты соответствующих опытов мы также рассмотрим отдельно, начав с более простого случая — фотореактивации.

3. ФОТОРЕАКТИВАЦИЯ ДРОЖЕЙ

Неспособность облученных ультрафиолетовыми лучами дрожжей фотореактивироваться «до конца» может быть связана в простейшем случае с тремя причинами:

1) с исчерпанием в ходе фотореактивации соответствующих метаболитов клетки (например, фотореактивационного фермента); 2) с возникновением при облучении некоторого числа нефотореактивируемых (не поддающихся фотореактивации) элементарных повреждений; 3) с переходом элементарных повреждений в необратимое состояние уже в пострadiaционный период [Кабаков, Корогодин, 1966].

Выбор между этими тремя вариантами можно сделать экспериментально. Действительно, в случае справедливости первого допущения для клеток, испытывавших полную возможную фотореактивацию после некоторой дозы ультрафиолетовых лучей, фотореактивация после повторного ультрафиолетового облучения вряд ли будет столь же эффективна. Вариации в интенсивности видимого света могут повлиять на величину необратимого компонента, вероятнее всего, в случае справедливости третьего допущения, и не окажут заметного действия в случае справедливости второго допущения. «Запуск» фотореактивации в различное время после действия ультрафиолетовых лучей вряд ли скажется на величине необратимого компонента в первом и втором случаях, но должен иметь существенное значение в третьем случае, особенно если переход элементарных «ультрафиолетовых» повреждений в необратимую (в отношении фотореактивации) форму не связан непосредственно с действием видимого света. Таким образом, сопоставление результатов опытов, выполненных по этим трем схемам, как показано в табл. 11, может позволить сделать выбор в пользу одного из приведенных выше трех предположений о природе необратимого компонента при фотореактивации.

Опыты, проведенные по этим схемам, дали весьма четкие результаты [Кабаков, Корогодин, 1966]. Клетки, повторно облученные ультрафиолетовыми лучами, оказались способными к фотореактивации (см. рис. 34, б), но необратимый компонент ультрафиолетового повреждения существенно увеличивался при уменьшении интенсивности видимого света (см. рис. 34, в) и после предшествующего фотореактивации пребывания облученных дрожжей в темноте при 30°С (см. рис. 34, г). Следовательно, необратимый компонент при ультрафиолетовом повреждении формируется в пострadiaционной

Таблица 11

Схемы опытов, позволяющие установить природу необратимого компонента при фотореактивации

Природа необратимого компонента	Схема опыта		
	Фотореактивация клеток, повторно облученных после полной фотореактивации от первого облучения	Различная интенсивность видимого света	Фотореактивация после предварительной инкубации облученных ультрафиолетовыми лучами клеток в темноте
Истощение метаболических ресурсов клеток	Фотореактивация неэффективна	—	Не влияет на величину необратимого компонента
Формирование во время облучения	Фотореактивация эффективна	Не влияет на величину необратимого компонента	Не влияет на величину необратимого компонента
Формирование после облучения	Фотореактивация эффективна	Влияет на величину необратимого компонента	Необратимый компонент возрастает

период. Это заключение позволяет построить следующую математическую модель фотореактивации [Кабаков, Корогодин, 1966].

Допустим, что все элементарные ультрафиолетовые повреждения (возникающие, как мы уже отмечали, при поглощении кванта света) сразу после своего формирования метастабильны, т. е. могут испытать фотореактивацию, а могут и утратить способность к ней. Число таких метастабильных повреждений (последствий элементарных актов попадания) D_m пропорционально заданной дозе D_0 . Каждое из этих повреждений можно охарактеризовать некоторой вероятностью p_1 утратить в единицу времени свою фотореактивабильность, а также вероятностью p_2 (зависящей, конечно, от интенсивности видимого света) испытать фотореактивацию. Тогда к моменту времени t число метастабильных повреждений будет равно

$$D_m(t) = D_0 e^{-(p_1 + p_2)t}, \quad (5.1)$$

а прирост числа элементарных повреждений D_Φ , уже испытавших фотореактивацию, будет определяться уравнением

$$dD_\Phi = D_0 e^{-(p_1+p_2)t} \cdot p_2 dt. \quad (5.2)$$

Решение уравнения (5.2) дает общее число фотореактивированных повреждений D_Φ как функцию времени t фотореактивации

$$D_\Phi(t) = D_0 \frac{p_2}{p_1 + p_2} [1 - e^{-(p_1+p_2)t}]. \quad (5.3)$$

Тогда уменьшение в клетках числа первичных повреждений, не испытавших фотореактивацию, выраженного в форме эффективной дозы D_t , будет описываться уравнением

$$D_t = D_0 - D_\Phi(t) = D_0 \left\{ 1 - \frac{p_2}{p_1 + p_2} [1 - e^{-(p_1+p_2)t}] \right\}. \quad (5.4)$$

Если фотореактивация начинается не сразу после ультрафиолетового облучения, а спустя некоторое время τ инкубации в темноте, то, согласно нашему допущению, при этом происходит только утрата элементарными метастабильными повреждениями их фотореактивности с некоторой вероятностью p'_1 в единицу времени. Этот процесс можно описать уравнением

$$D_m(\tau) = D_0 \cdot e^{-p'_1 \tau}, \quad (5.5)$$

которое, как было показано специальными расчетами, хорошо отражает действительное положение вещей [Кабаков, Корогодин, 1966]. Подставив выражение (5.5) вместо D_0 в уравнение (5.3) и произведя соответствующее преобразование уравнения (5.4), получим

$$D_t = D_0 \left\{ 1 - e^{-p'_1 \tau} \cdot \frac{p_2}{p_1 + p_2} [1 - e^{-(p_1+p_2)t}] \right\}, \quad (5.6)$$

где D_t — эффективная доза по прошествии времени фотореактивации t ; D_0 — заданная доза; τ — интервал времени между ультрафиолетовым облучением и началом фотореактивации; p'_1 — вероятность в единицу времени утраты фотореактивности в темноте; p_1 — то же при действии видимого света; p_2 — вероятность в единицу времени испытать фотореактивацию. Напом-

ним еще раз, что величины p_1' , p_1 и p_2 относятся не к отдельным клеткам, а к содержащимся в клетках отдельным элементарным повреждениям.

Положив

$$\left(1 - e^{-p_1' \tau} \cdot \frac{p_2}{p_1 + p_2}\right) = k, \quad (5.7)$$

а
$$(p_1 + p_2) = \beta, \quad (5.8)$$

уравнение (5.6) можно записать в форме

$$D_t = D_0 [k + (1 - k) e^{-\beta t}], \quad (5.9)$$

т. е. в форме того уравнения, которое Новик и Сциллард [Novick, Szilard, 1949] предложили для описания процесса фотореактивации.

Значение коэффициентов k и β уравнения (5.9) можно легко рассчитать из экспериментальных данных. Кривая, представленная на рис. 34, а, построена согласно уравнению (5.9) при значениях $k=0,27$ и $\beta=1,17 \text{ ч}^{-1}$ и, как мы видим, хорошо описывает результаты опытов. Эти коэффициенты можно назвать эмпирическими параметрами фотореактивации и, зная их величину, вычислить значения p_1' , p_1 и p_2 , имеющие, как мы видели выше, определенное физическое содержание. Действительно, из уравнений (5.7) и (5.8) следует, что при $\tau=0$

$$p_1 = \beta k, \quad (5.10)$$

а

$$p_2 = \beta (1 - k). \quad (5.11)$$

При «включении» процесса фотореактивации спустя различные интервалы времени τ_1 и τ_2 можно рассчитать p_1' , пользуясь уравнением

$$p_1' = \frac{1}{\tau_2 - \tau_1} \ln \frac{1 - k_1}{1 - k_2}, \quad (5.12)$$

где k_1 и k_2 — значения эмпирического параметра k уравнения (5.9) в этих обоих случаях.

Анализ некоторых экспериментальных данных, полученных в опытах по фотореактивации на дрожжевых клетках, показал следующее. Вероятность фотореактивации в единицу времени p_2 , действительно, зависит

от интенсивности видимого света, но мало изменяется при повторных ультрафиолетовых облучениях и предварительном выдерживании облученных клеток в темноте. Вероятность утраты способности к фотореактивации p_1 слабо зависит от интенсивности видимого света, но весьма чувствительна к другим условиям эксперимента; в темноте вероятность утраты способности к фотореактивации p_1' меньше, чем при освещении видимым светом (табл. 12). Весьма существенно, что ни

Т а б л и ц а 12

Значение параметров фотореактивации p_1 , p_2 и p_1' дрожжей, облученных ультрафиолетовыми лучами, для различных вариантов опытов [Кабаков, Корогодин, 1966]

Вариант опыта	$p_1, \text{ч}^{-1}$	$p_2, \text{ч}^{-1}$	$p_1', \text{ч}^{-1}$
Стандартные условия фотореактивации ($\tau=0$; 17 000 лк/см ²)	$0,30 \pm 0,05$	$0,94 \pm 0,07$	—
Слабая освещенность ($\tau=0$; 6000 лк/см ²)	$0,33 \pm 0,05$	$0,40 \pm 0,03$	—
Фотореактивация после предварительной инкубации в темноте ($\tau=4 \text{ ч}$; 17 000 лк/см ²)	$0,23 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,06$	$0,14 \pm 0,02$
Фотореактивация после повторного облучения ультрафиолетовыми лучами ($\tau=0$; 17 000 лк/см ²)	$0,66 \pm 0,06$	$1,19 \pm 0,07$	—

фотореактивация, ни утрата способности к ней не наблюдаются при 0°С. С другой стороны, интенсивность темнового восстановления клеток, поврежденных ультрафиолетовыми лучами, не зависит от того, утратили ли элементарные ультрафиолетовые повреждения способность фотореактивироваться или нет [Кабаков, Корогодин, 1966].

Механизм поражения клеток ультрафиолетовыми лучами не является предметом настоящей книги, и поэтому мы не будем обсуждать возможные причины столь интересных явлений, как утрата фотореактивности элементарными ультрафиолетовыми повреждениями и осуществление самого процесса фотореакти-

вазии, тем более что природа первого из этих явлений еще совершенно не изучена, а механизмы фотореактивации пространно обсуждаются в сводке Руперта и Харма [Rupert, Harm, 1966]. Формулировку математической модели фотореактивации мы привели лишь как пример перспективности анализа количественных закономерностей этого процесса с позиций принципа попадания. Действительно, только такой подход позволил установить, что элементарными единицами фотореактивации являются последствия дискретных попаданий (состоящих, по-видимому, в поглощении кванта ультрафиолетового света); высказать и обосновать гипотезу о том, что все элементарные ультрафиолетовые повреждения сразу после своего возникновения обладают способностью фотореактивироваться; а также позволили показать, что утрата этими повреждениями фотореактивности (их «фиксация») может осуществляться вне какой бы то ни было связи с процессами синтеза ДНК и клеточного деления [Кабаков, Корогодин, 1966], вопреки широко распространенному мнению (Rupert, Harm, 1966).

Подобный подход к анализу процесса восстановления может быть использован, конечно, и при изучении других его форм, в частности после воздействия на клетки ионизирующих излучений.

4. ТЕМНОВОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕЙ

Как было показано выше, темновое восстановление клеток, пораженных ионизирующими излучениями, подобно их фотореактивации после действия ультрафиолетовых лучей может быть описано в форме уменьшения эффективной дозы. Однако, согласно теоретическому анализу различных возможных вариантов восстановления [Капульцевич, Корогодин, 1964], этому типу темнового восстановления могут соответствовать по меньшей мере четыре случая. Во-первых, изменение соотношения форм инактивации, соответствующее уменьшению эффективной дозы, можно наблюдать, когда элементарными единицами восстановления служат последствия отдельных попаданий, хотя вероятность восстановления клетки в единицу времени от одного такого повреждения может не зависеть от наличия в

данной клетке других повреждений (1-й случай), или может убывать с увеличением их числа (2-й случай), или, наконец, возрастать (3-й случай). Во-вторых, такое же изменение соотношения форм инактивации можно наблюдать, если элементарными единицами восстановления служат отдельные пораженные мишени, но вероятность восстановления клетки от поражения мишени не зависит от наличия в клетке других пораженных мишеней (4-й случай). Во всех этих случаях пострадиационное восстановление клеток будет совершаться по типу уменьшения эффективной дозы, однако динамика процесса восстановления во времени и после разных доз облучения во всех этих случаях должна быть различной. Именно последним обстоятельством и можно воспользоваться, чтобы решить вопрос, какая же из перечисленных выше четырех моделей лучше соответствует фактам, наблюдаемым в экспериментах. Первым шагом в этом направлении должно быть решение вопроса об особенностях формирования необратимого компонента лучевого поражения клеток, а вторым — анализ кинетики восстановления клеток от обратимых последствий облучения при разных исходных дозах.

Относительно природы необратимого компонента лучевого поражения клеток ионизирующими излучениями применимы те же рассуждения, что и после воздействия ультрафиолетовым светом: необратимый компонент может быть следствием «метаболического истощения» клеток или может формироваться либо во время облучения, либо в пострадиационный период. Весьма обширный и разнообразный материал, полученный при экспериментальном изучении способа формирования необратимого компонента при действии ионизирующих излучений на дрожжевые организмы, заставил полностью отказаться от первого предположения и не дал никаких свидетельств в пользу третьего; вся совокупность подробно проанализированных фактов сделала наиболее правдоподобным предположение о том, что в этом случае необратимый компонент формируется в клетках непосредственно во время лучевого воздействия [Корогодин, 1966]. Величину этого необратимого компонента можно выражать в эффективной дозе в виде kD_0 , равной уровню плато кривой восстановления, изобра-

женного в форме зависимости эффективной дозы от времени (см. рис. 35, а).

Если теперь из кривых восстановления дрожжей, облученных разными дозами ионизирующих излучений,

Таблица 13
Значение параметров k и β пострадиационного восстановления дрожжей, облученных различными дозами γ -квантов [Корогодин, 1966]

Доза, кр	k	$\beta, \text{ч}^{-1}$
37	0,30	0,069
44	0,29	0,069
70	0,22	0,078
97	0,22	0,060
123	0,19	0,049
150	0,17	0,053
177	0,18	0,060
Среднее	—	$0,062 \pm 0,004$

вычесть необратимые компоненты, изображенные на рис. 35, а пунктирными прямыми, то обратимые доли лучевого поражения, выраженные в эффективных дозах, будут уменьшаться во времени так, как показано на рис. 35, б, т.е. по простому экспоненциальному закону. Следовательно, динамику процесса восстановления можно описать уравнением

$$D_t = D_0 [k + (1 - k)e^{-\beta t}], \quad (5.13)$$

где D_t — эффективная доза в момент времени t ; D_0 — заданная доза; k —

необратимый компонент, выраженный в долях заданной дозы; β — коэффициент, отражающий скорость процесса. Значение β при постоянной температуре инкубации облученных клеток в воде, как видно из табл. 13, не зависит от величины D_0 . Теоретический анализ этого обстоятельства показали Ю. Г. Капульцевич и В. И. Корогодин (1964): оно может наблюдаться лишь в том случае, если элементарными единицами восстановления служат, как мы уже отмечали выше, последствия отдельных элементарных попаданий, а вероятность восстановления клетки в единицу времени от одного такого повреждения не зависит от наличия и числа в клетке других повреждений и равна β .

Нетрудно видеть, что физический смысл коэффициентов k и β уравнения (5.13) существенно отличается от физического смысла таких же коэффициентов уравнения (5.9), описывающего процесс фотореактивации: если в случае фотореактивации клеток, пораженных ультрафиолетовыми лучами, k и β — эмпирические па-

параметры восстановления, отражающие соотношения величин вероятностей утраты фотореактивабельности p_1 и p_1' и вероятности осуществления фотореактивации p_2 для отдельных элементарных повреждений, то в случае темнового восстановления клеток после воздействия ионизирующими излучениями величина k есть доля необратимых элементарных повреждений, а β — вероятность восстановления клетки в единицу времени от одного обратимого повреждения.

Простота статистических закономерностей, описывающих восстановление жизнеспособности дрожжевых клеток, пораженных ионизирующими излучениями, и независимость интенсивности этого процесса β от дозы облучения D_0 свидетельствуют по крайней мере о двух обстоятельствах. Во-первых, независимость поведения отдельных элементарных повреждений (последствий отдельных попаданий) в ходе восстановления позволяет предположить, что S-образная форма кривой выживания дрожжевых клеток (а может быть, и других клеток и одноклеточных организмов) обуславливается тем, что для инактивации одной клетки требуется повреждение нескольких мишеней (эффективных объемов), размеры которых весьма малы, и для поражения каждой из которых необходимо и достаточно одного попадания (модель «много одноударных мишеней»). Во-вторых, независимость величины β от D_0 означает, что процесс восстановления клеток от таких повреждений осуществляется с участием массовых структурных компонентов, представленных в клетках в избыточном количестве [Корогодин, 1966]. То обстоятельство, что для осуществления восстановления необходимо дыхание или брожение (точнее, аэробный или анаэробный гликолиз) [Мосин, 1966], хорошо согласуется со вторым утверждением.

5. УСЛОВИЕ ПОСТРАДИАЦИОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕЙ

Мы рассмотрели некоторые закономерности восстановления дрожжевых клеток от летальных последствий облучения. Однако эффект восстановления, как мы уже отмечали, присущ многим биологическим объектам и распространяется на различные последствия облучения.

Так, при искусственном торможении размножения клеток, облученных ионизирующими излучениями, бактерии восстанавливаются от повреждений, вызывающих инактивацию и обратные биохимические мутации [Gillies, Alper, 1959; Kada, 1965]; парамеции — от повреждений, вызывающих рецессивные детали [Kimball, 1957]; клетки млекопитающих в культуре — от летальных последствий облучения [Бурлакова, Пархоменко, 1966]; дрожжи разных штаммов и плоидности — от повреждений, вызывающих гибель клеток [Корогодин, 1966], задержку формирования колоний [Luman, 1965] и некоторые генетические изменения [Арман, 1966]. Естественно поэтому предположить, что значительная доля модификационного воздействия самых различных факторов на облученные клетки также может быть связана с феноменом восстановления. Мы уже упоминали в начале этой главы, что некоторые авторы объясняют восстановлением различия в выживании облученных бактерий, воспитываемых на разных средах или при разных температурах. С восстановлением клеток от «сублетальных» повреждений иногда также связывают изменение их реакции на повторное облучение при подрачивании их между двумя облучениями на питательной среде [Elkind, 1963; Vacchetti et al., 1964]. Некоторые авторы склонны трактовать как восстановление уменьшение выхода хромосомных аберраций, регистрируемых в первом пострadiационном делении, с течением времени вступления в митоз облученных клеток [Лучник, 1966; Лучник и Царапкин, 1959], а также уменьшение выхода двуразломных аберраций при фракционировании дозы [Дубинин и др., 1965; Wolf, 1965]. К сожалению, все эти явления до сих пор изучены еще недостаточно, и весьма часто дело не идет дальше простой констатации факта. До сих пор, по существу, даже не сформулирован четко вопрос о том, в какой мере все эти различные формы модификации эффекта дозы связаны между собой и с истинным пострadiационным восстановлением клеток от лучевых повреждений, а если в основе их действительно лежит восстановление, сколь общи или различны механизмы его во всех этих случаях. Очевидно, подходить к анализу этих вопросов следует с разработки форм экспериментов, позволяющих вычлениить и количественно оценить долю восстановления в каждом конкретном слу-

чае. Ввиду того, что в случае действия ионизирующих излучений к настоящему времени наиболее полно изучены закономерности восстановления клеток при пострадиационной инкубации в непитательной среде, мы и покажем на двух примерах, как можно оценить вклад этой формы восстановления в модифицирующее влияние на клетки некоторых условий культивирования их после облучения.

Выше мы уже говорили о том, что дрожжевые клетки, выдерживаемые после воздействия ионизирующими излучениями в буфере или в водопроводной воде, никогда не восстанавливаются до конца — необратимый компонент лучевого поражения равен 20—25% заданной дозы. Следовательно, выдержав облученные клетки достаточное время (двое-трое суток) в непитательной среде, можно тем самым «заставить» их восстановиться почти от всех обратимых элементарных повреждений. С другой стороны, сроки, в течение которых облученные клетки, помещенные на питательную среду, еще сохраняют способность к восстановлению, строго ограничены первым пострадиационным делением ядра — именно во время первого деления ядра облученной клетки все элементарные повреждения, сохранившиеся в ней к этому времени, вызывают вторичные, необратимые изменения (реализация потенциальных повреждений), и клетка полностью утрачивает способность к восстановлению [Корогодин, 1966].

Отмеченные выше обстоятельства позволяют предложить два независимых критерия для проверки того, связано ли влияние тех или иных условий пострадиационного культивирования клеток на их жизнеспособность (или другие эффекты облучения) с той разновидностью восстановления, которая проявляется при выдерживании клеток в «голодной» среде [Korogodin et al., 1966]. Действительно, если оба феномена имеют одну и ту же природу, то вариация условий культивирования не должна влиять на эффективность облучения в двух случаях: 1) если облученные клетки перед высевом в разные условия выдержаны в непитательной среде в течение времени, достаточного для практического завершения ими пострадиационного восстановления, и 2) если облученные клетки переносят из одних условий культивирования в другие после того, как в них уже произошло

первое деление ядра, т. е. потенциальные повреждения реализовались. О действенности этих критериев свидетельствуют следующие примеры.

Если облученные дрожжи выращивать при 30°С на средах, содержащих 4° Балл. или 1° Балл. сусла, или на среде, содержащей 4° Балл. сусла, но при разных

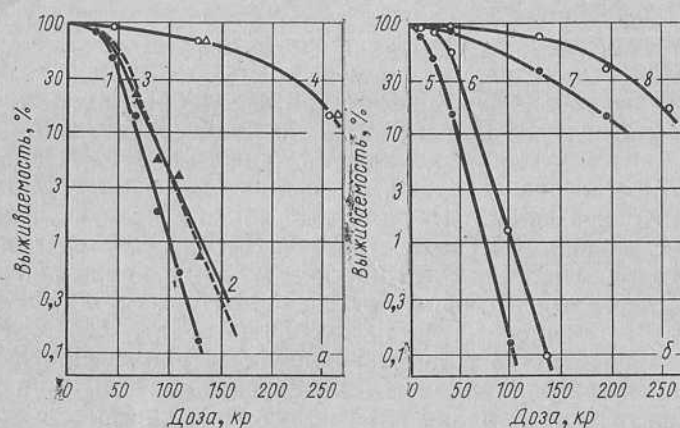


Рис. 36. Кривые выживания дрожжей при пострadiaционном выращивании в разных условиях [Korogodin et al., 1966]:

а — инкубация при 30° на средах с разным содержанием сусла; б — инкубация на среде с 4° Балл. сусла при 10 и 30°С: 1 и 3 — 4° Балл. сусла; 2 и 4 — 1° Балл. сусла; 1 и 2 — высев сразу после облучения; 4 — высев после трехсуточного восстановления в воде; 3 — теоретическая кривая выживания дрожжей после шестичасового восстановления; 5 и 7 — 10°С; 6 и 8 — 30°С; 5 и 6 — высев сразу после облучения; 7 и 8 — высев после трехсуточного восстановления в воде.

температурах — 30 и 10°С, то выживаемость их, как показано на рис. 36, будет различной. Чтобы проверить, связано ли модифицирующее влияние концентрации сусла и температуры с процессом пострadiaционного восстановления, как можно было предполагать на основании некоторых косвенных данных [Корогодин и Карабаев, 1963], облученные клетки можно помещать в различные условия культивирования не тотчас после лучевого воздействия, а спустя двое-трое суток пребывания в «режиме восстановления».

Специальные опыты, выполненные по этой схеме, показали следующее [Korogodin et al., 1966; Капульцевич, 1967; Капульцевич, Близник, 1967]. Если облученные

клетки, испытавшие пострадиационное восстановление, выращивать на средах с разным содержанием сусла, то условия культивирования на их жизнеспособность совершенно не влияют — кривые выживания, полученные в обоих случаях, совпадают (см. рис. 36, *а*). Если же восстановившиеся клетки выращивать при разных температурах, то наблюдаются почти такие же различия в ходе кривых выживания, как и при выращивании клеток в разных температурных режимах сразу после облучения (см. рис. 36, *б*).

Результаты опытов с клетками, выращивавшимися на средах с разным содержанием сусла, весьма убедительно свидетельствуют, что в данном случае модифицирующее влияние условий культивирования обязано эффекту восстановления [Капульцевич, Близник, 1967]. И действительно, если на среде с 4° Балл. сусла первое почкование облученных дрожжей начинается примерно через 2,5—3 ч, а заканчивается через 5—6 ч, то на среде с 1° Балл. сусла оно начинается через 6—7 ч и заканчивается через 12—14 ч. Это означает, что во втором случае клетки имеют около 6 дополнительных часов для осуществления восстановления. Используя кривую выживания 1 (см. рис. 36, *а*), уравнение (5.13), значения k и β , приведенные в табл. 13, и приняв $t=6$ ч, можно рассчитать теоретическую кривую выживания дрожжей на среде с 1° Балл. сусла (кривая 3 на рис. 36, *а*), которая очень хорошо совпадает с экспериментальной кривой 2. Это, во-первых, подтверждает заключение о том, что в данном случае модификация жизнеспособности облученных клеток обязана именно той форме пострадиационного восстановления, которая проявляется при их инкубации в непитательной среде, а во-вторых, позволяет предположить, что скорость пострадиационного восстановления клеток на питательной среде (в данных условиях, конечно) примерно такая же, как и при инкубации их, при той же температуре, в буферном растворе или в водопроводной воде.

В противоположность этому случаю результаты опытов с выращиванием облученных клеток при разных температурах восстановлением объяснить невозможно. Это заключение подтверждается следующими экспериментальными данными [Капульцевич, 1967]. Облученные клетки подращивали некоторое время при 30 или 10° С,

а затем до полного проявления эффекта инкубировали при другой температуре — при 10 или 30°С соответственно. В этих же опытах определяли скорость размножения облученных клеток при обеих температурах. Полученные результаты изображены на рис. 37. Стрелкой *R* отмечен тот период в развитии клеток, когда завершается реализация (утрата обратимости) лучевых повреждений. Мы видим, что при изменении температуры инкубации с 30 на 10°С неблагоприятное влияние низкой температуры вначале усиливается, а затем медленно уменьшается, но продолжает сказываться еще долго после того, как облученные клетки полностью утрачивают способность к пострadiaционному восстановлению (кривая 3).

Аналогичное явление наблюдается при изменении температуры инкубации с 10 на 30°С, хотя влияние изменения температуры на выживание дрожжей в этом случае прямо противоположно тому, которое наблюдается при реципрокной схеме опыта: вначале эффект облучения уменьшается, а затем постепенно возрастает (кривая 4).

Заключение о том, что влияние температуры пострadiaционной инкубации на выживаемость облученных дрожжей в данном случае не связано с восстановлением, хорошо согласуется со следующими простыми расчетами. Из рис. 37 (кривая 2) следует, что размножение облученных дрожжевых клеток при 10°С происходит в 7 раз медленнее, чем при 30°С. Другие данные, полученные на этом же штамме дрожжей [Карабаев и Холева, 1966], позволяют рассчитать, что скорость пострadiaционного восстановления при инкубации облученных клеток в водопроводной воде при 10°С также примерно в 7 раз ниже, чем скорость этого процесса при 30°С (кривая 1). Это означает, что при инкубации облученных дрожжей на питательной среде при 10°С интенсивность их пострadiaционного восстановления уменьшается примерно во столько же раз по сравнению с интенсивностью при 30°С, во сколько раз увеличивается интервал времени между облучением и реализацией потенциальных повреждений: оба эти фактора компенсируют друг друга. Поэтому кривые выживания дрожжей, инкубируемых после облучения при 10 и 30°С, должны в *равной* мере отражать влияние на экспери-

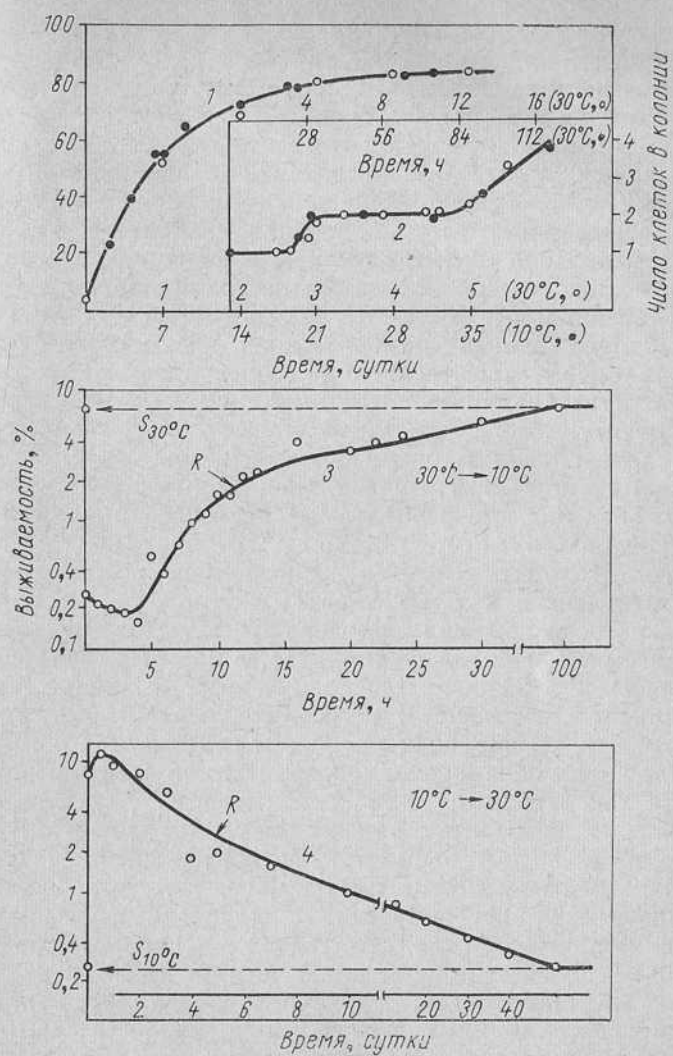


Рис. 37. Влияние температуры (10 и 30° С) на восстановление, размножение и жизнеспособность облученных дрожжей [по: Korogodin et al., 1966]:

1 — восстановление жизнеспособности дрожжей при инкубации в воде (доза облучения 37 кр, рентгеновские лучи); 2 — размножение дрожжей на сусло-агаре (65 кр, γ -кванты); 3 — изменение выживаемости дрожжей, облученных в дозе 65 кр γ -квантами, при перенесении в разные сроки после высева на сусло-агар из среды с t 30° в среду с t 10° С; 4 — то же, при перенесении из среды с t 10° в среду с t 30° С.

ментально определяемую кривую выживания процессов пострadiaционного восстановления.

Мы не знаем, какова природа феномена, изображенного на рис. 37; чтобы составить на этот счет какое-либо мнение, потребуется провести еще большое количество дополнительных исследований. Мы привели этот пример, чтобы еще раз подчеркнуть, сколь скороспелы и неверны могут быть заключения, сводящие к эффекту восстановления любые случаи модификации выживания облученных клеток условиями пострadiaционного культивирования.

Однако данный пример имеет и другое, может быть, даже более существенное значение. Если различия в кривых выживания клеток, выращиваемых при разных условиях, могут быть *не связаны* с восстановлением, то следует ожидать, что и без вмешательства восстановления (например, в случаях неспособных к восстановлению объектов или необратимых последствий облучения) различия эти могут и должны сохраниться. Следовательно, говорить о форме дозовой кривой можно лишь по отношению к тем конкретным условиям пострadiaционного воспитания облученных объектов (а точнее, ко всем условиям эксперимента), в которых эти кривые получены. В различных условиях дозовые кривые, полученные на одном и том же объекте, могут иметь разный наклон и разное значение экстраполяционного числа (или числа попаданий). Формально это можно трактовать как отражение того обстоятельства, что в *разных* условиях летальными для клетки может оказаться *разное* число *разных* элементарных повреждений. Действительно, вряд ли можно сомневаться, что столь сложный конечный эффект облучения, как гибель (или инактивация) клетки, может быть связан с первичным повреждением вследствие попаданий целого ряда элементарных внутриклеточных структур, и значимость повреждения тех или иных структур или того или иного их числа для жизнеспособности клетки может и должна зависеть от условий культивирования; достаточно вспомнить, например, о проявлении биохимических мутаций на разных средах. Как справедливо отмечает Альпер [Alper, 1965], подобная концепция может помочь в объяснении весьма противоречивых, на первый взгляд, фактов. Если мы научимся когда-нибудь исключать

модифицирующее влияние эффекта пострадиационного восстановления на форму дозовых кривых, прямым путем или путем расчета (чего мы, к сожалению, пока делать не можем ввиду недостаточности наших знаний), мы получим возможность непосредственного экспериментального анализа этой концепции для конкретизации наших представлений о природе соответствующих элементарных структур клетки.

6. ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕННЫХ ХРОМОСОМ

До сих пор, обсуждая вопрос о пострадиационном восстановлении клеток, мы концентрировали свое внимание на наиболее наглядном с нашей точки зрения примере восстановления способности дрожжевых клеток к размножению. Однако, как уже упоминалось, имеется целый ряд других радиобиологических реакций, изучение которых приводит экспериментаторов к выводу о том, что в формировании конечных эффектов существенную роль играют процессы пострадиационного восстановления. Такая точка зрения развивается, в частности, некоторыми радиобиологами, изучающими хромосомные aberrации, индуцированные ионизирующими излучениями [Thoday, 1953; Свенсон, 1956; Лучник, Царапкин, 1959; Лучник и др., 1964]. Наиболее последовательно вопрос о роли процесса пострадиационного восстановления в формировании хромосомных aberrаций исследован Н. В. Лучником и его сотр., на работах которых мы и остановимся несколько подробнее.

Предполагается, что первичные лучевые повреждения хромосом носят потенциальный характер и могут либо реализоваться в цитологически анализируемые aberrации, либо вернуться к норме. В качестве основных доводов в пользу гипотезы восстановимых потенциальных повреждений были выдвинуты следующие: снижение выхода хромосомных aberrаций, наблюдаемое при построении кривых время — эффект, возможность пострадиационной модификации выхода хромосомных aberrаций химическими воздействиями и характер влияния влажности во время и после облучения покоящихся семян на выход хромосомных aberrаций.

Нисходящий характер кривых время—эффект можно объяснить по крайней мере тремя различными причинами: элиминацией поврежденных клеток, дифференциальной радиочувствительностью различных фаз

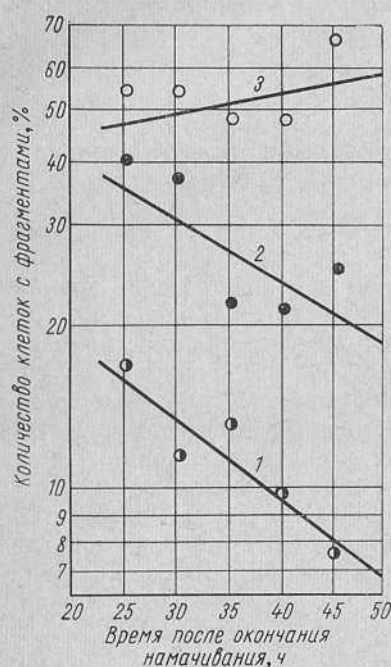


Рис. 38. Кривые время—эффект для клеток с фрагментами после γ -облучения покоящихся семян гороха дозами 10 000 р (1), 20 000 р (2) и 40 000 р (3) [Лучник и др., 1964].

клеточного цикла (так как облучаются обычно асинхронные клеточные популяции) и эффектом восстановления. Против элиминации поврежденных клеток говорит нисходящий характер кривых время—эффект в пределах первого после облучения митоза. Выбор между дифференциальной чувствительностью фаз клеточного цикла и восстановлением только на основании кривых время—эффект более затруднителен. Косвенным свидетельством в пользу восстановления можно считать изменение характера кривых время—эффект при переходе к более высоким дозам (рис. 38), что менее вероятно в случае определяющей роли различий в чувствительности отдельных фаз цикла. Однако эти данные не позволяют

полностью исключить такое объяснение, так как изменение характера кривых время—эффект при переходе к более высоким дозам может определяться, во-первых, различием в ходе кривых доза—эффект для отдельных фаз клеточного цикла, которые пока точно неизвестны, и, во-вторых, несовпадением астрономического и «клеточного» времени для асинхронных популяций клеток, облученных различными дозами ионизирующих излучений.

Более определенно, пожалуй, свидетельствуют в пользу восстановления потенциально поврежденных хромосом данные о снижении выхода этой радиобиологической реакции некоторыми химическими воздействиями, применяемыми после облучения (табл. 14). Действительно, в таких случаях время воздействия агента не позволяет говорить о влиянии на первичные события, и, кроме того, снижение выхода не только фрагментов, но и мостов свидетельствует против представления о повышении вероятности воссоединения истинных первичных разломов. Конечно, и этот довод, взятый отдельно, не является прямым доказательством наличия эффекта восстановления, но иные трактовки, в частности с позиций дифференциальной радиочувствительности, требуют более сложных построений о характере воздействия модифицирующих агентов на клеточный цикл.

Наконец, в пользу представления о восстановимости и потенциальном характере первичных повреждений хромосом были приведены данные [напр., Лучник и др., 1964; Фесенко и Порядкова, 1966] о выходе хромосомных aberrаций в корневых меристемах после облучения покоящихся семян различной влажности. В этом случае в диапазоне влажности семян примерно от 5 до 15% обычно обнаруживают снижение радиочувствительности. Пример такого рода данных приведен на рис. 39 (кривая 2), где видно, что после облучения покоящихся семян гороха γ -квантами в дозе 15 000 *p* наибольшая частота клеток с фрагментами в первом митозе обнаруживается при низкой (примерно 5—7%) влажности облучаемых семян, а наименьшая — при влажности семян около 15%. На основании данных этих опытов по методу, предложенному Н. В. Лучником (1963), было вычислено количество (в процентах) первично поврежденных клеток для всех вариантов влажности семян. Полученные значения показаны кривой 1 на рис. 39. Так как для экспериментальных значений процентов поврежденных клеток обнаруживаются значительные различия между вариантами, а для вычисленных значений процентов первично поврежденных клеток таких различий не обнаруживается, сделан вывод о том, что наблюдаемые в опыте различия между вариантами влажности определяются восстановлением клеток от потенциальных повреждений.

Влияние цистеина, применяемого после γ -облучения, на ча
[Лучник

Стадия митоза	Среда для намачивания	Ненормальные митозы			
		%	χ^2	p	%
Анафазы	Вода	$29,2 \pm 2,3$	41,6	10^{-10}	$18,2 \pm 2,0$
	Цистеин	$11,0 \pm 1,6$			$7,8 \pm 1,3$
Телофазы	Вода	$6,0 \pm 1,2$	8,3	0,004	$5,0 \pm 1,1$
	Цистеин	$2,0 \pm 0,7$			$1,8 \pm 0,7$

Надежность этого вывода определяется по крайней мере двумя обстоятельствами, а именно — степенью адекватности той модели, которая положена в основу

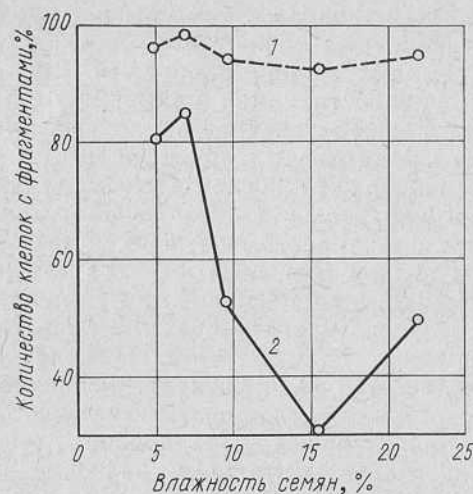


Рис. 39. Частота первичных (1) и реализованных (2) повреждений при различной влажности облучаемых семян (15 000 p γ -квантов) [Лучник и др., 1964].

расчета процентов первично поврежденных клеток, и выбором таких условий опыта, которые позволили бы выявить различия между количествами первично по-

Таблица 14

стоту хромосомных aberrаций в анафазах и телофазах
и др., 1964]

Клетки с мостиками		Клетки с фрагментами		
χ^2	p	%	χ^2	p
19,5	10^{-5}	$14,7 \pm 1,9$ $4,5 \pm 1,0$	24,1	10^{-6}
6,5	0,012	$1,3 \pm 0,6$ $0,3 \pm 0,3$	2,7	0,10

врежденных клеток в разных вариантах. Что касается адекватности модели, в основу которой положены локальный характер лучевых повреждений хромосом и «клеточный» механизм их восстановления, то такая модель, пожалуй, менее всего противоречит наблюдениям, хотя предположение о всеобщности «поклеточного» механизма пострadiационного восстановления хромосом и встречает ряд возражений. Что же касается выбора оптимальных в отношении разрешающей способности условий опыта по облучению семян различной влажности, то вряд ли в данном случае этот выбор вполне удачен, и вот почему. Приняв модель локального повреждения и «поклеточного» восстановления хромосом и вычислив количества первично поврежденных клеток, соответствующие различной тяжести повреждения, Н. В. Лучник (1963) получил данные, которые можно изобразить так, как это сделано на рис. 40, где видно, что кривая зависимости количества первично поврежденных клеток от регистрируемого числа повреждений на одну поврежденную клетку имеет выпуклую форму и асимптотически приближается к 100%. Характер кривой показывает также, что диапазону регистрируемой поврежденности примерно от 2,5 до 4,3 повреждений на одну поврежденную клетку соответствует относительно небольшое приращение количества первично поврежденных клеток, от 90 до 99%, т. е. на этом участке кривой установление различий между вариантами становится крайне затруднительным, так как частота хро-

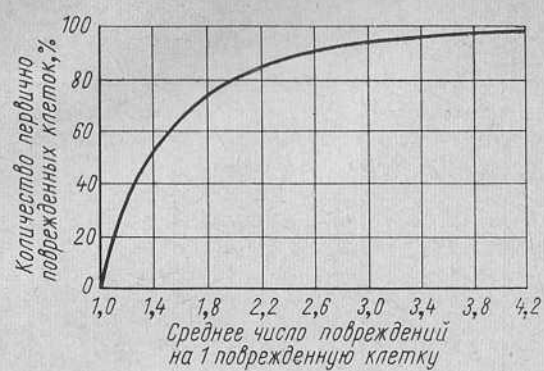


Рис. 40. Теоретическая кривая зависимости числа первично поврежденных клеток от наблюдаемой тяжести повреждения пораженных клеток.

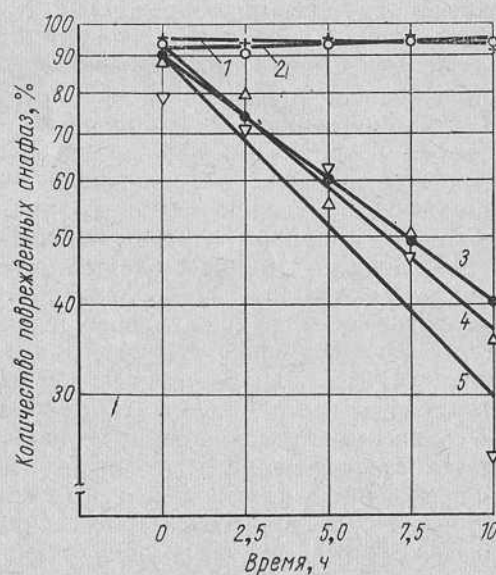


Рис. 41. Кривые время — эффект для поврежденных клеток при разной влажности облучаемых семян [Лучник и др., 1964].

1—5,6%; 2—2,8%; 3—12,1%; 4—16,0%; 5—19,9%.

мсомных aberrаций отличается значительной вари-
 бильностью. Опыты, результаты которых приведены на
 рис. 39, выполнены именно в таких условиях, когда
 средние тяжести повреждения клеток приходятся на
 этот диапазон.

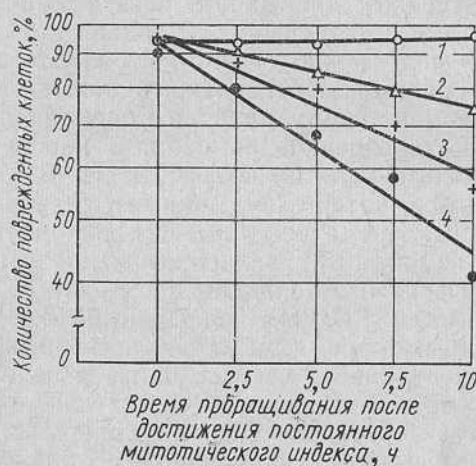


Рис. 42. Кривые время — эффект для по-
 врежденных клеток при различной влажно-
 сти семян во время и после облучения:
 [Фесенко, Порядкова, 1966].
 1—8,2 → 8,3% H_2O ; 2—16,6 → 14,5% H_2O ;
 3—8,2 → 11,2% H_2O ; 4—16,0 → 16,6% H_2O
 (первая цифра — влаж-
 ность при облучении, вторая — через сутки хране-
 ния после облучения).

Однако позже были получены дополнительные дан-
 ные о ходе кривых время — эффект при облучении се-
 мян различной влажности [Фесенко и Порядкова, 1966].
 Эти данные, приведенные авторами к единому во всех
 вариантах «клеточному» масштабу времени, представ-
 лены на рис. 41, где видно, что в начале первого митоза
 разницы между вариантами влажности не было обна-
 ружено. Соответствующие варианты различаются толь-
 ко ходом кривых время — эффект: горизонтальным — в
 вариантах с низкой влажностью и нисходящим — с вы-
 сокой. Но еще более интересно то обстоятельство, что
 выдерживание семян во влажной атмосфере после об-
 лучения их в сухом состоянии приводит к увеличению

угла наклона кривой время — эффект, а противоположная манипуляция — к его заметному уменьшению (рис. 42). Таким образом, предположение об определяющем значении процессов восстановления в так называемом «эффекте влажности» семян на основании суммы приведенных данных становится наиболее вероятным.

В заключение можно сказать, что порознь все рассмотренные данные могут служить только косвенным свидетельством в пользу наличия феномена пострадиационного восстановления хромосом. В нашем обсуждении мы использовали только работы Н. В. Лучника и его сотрудников, которые, на наш взгляд, наиболее последовательны. Кроме того, имеется ряд других работ (некоторые из них цитировались выше), авторы которых пришли к выводу о потенциальном характере и частичной обратимости лучевых повреждений хромосом на основании иных, порой еще более косвенных, доводов. Однако если оценивать всю ситуацию в целом, то, несмотря на отсутствие прямых доказательств, по совокупности имеющихся доводов и свидетельств, можно считать феномен пострадиационного восстановления хромосом вполне реальным и заслуживающим самого глубокого изучения. Отметим, кстати, что отсутствие прямых доказательств феномена восстановления хромосом не делает более определенным представление о дифференциальной чувствительности фаз цикла как о факторе, определяющем особенности этой радиобиологической реакции.

7. МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА ВРЕМЕНИ

Прежде чем подвести итоги общим соображениям и фактическому материалу, изложенным в этой главе, мы считаем необходимым, хотя бы весьма кратко, обсудить возможные подходы к выяснению роли восстановления в тех случаях модификации эффекта дозы, когда действующим фактором выступает продолжительность или фракционирование облучения — так называемый фактор времени.

Мы уже упоминали в гл. 1, что влияние фракционирования дозы на выживание облученных одноклеточных было описано еще Кроузером [Growther, 1926]: дейст-

ние рентгеновских лучей на выживание *Colpium colpoda* оказывалось тем менее выраженным, чем большие интервалы времени проходили между фракциями одной и той же суммарной дозы. Кроузер назвал этот феномен «восстановлением». В 30-х годах было обнаружено, что фракционирование облучения корешков растений и микроспор традесканции сопровождается уменьшением выхода так называемых двуразломных хромосомных aberrаций — колец и дицентриков [Sax, 1940]. Ли и Катчесайд [Lea, Catcheside, 1942] объяснили это тем, что куски хромосомы, разломанной в результате осуществления одного попадания, способны воссоединяться (реституировать), и, естественно, двуразломной рекомбинации не может произойти, если второй разлом, способный участвовать в рекомбинации, образуется уже после того, как последствия первого разлома исчезли вследствие воссоединения. В данном случае под «восстановлением» при фракционированном облучении понимали «воссоединение» разломанных хромосом; совершенно естественно, что если это представление правильно, то воссоединение разломанных хромосом может происходить не только при фракционированном облучении, но и при любом другом способе лучевого воздействия. Именно поэтому некоторые авторы [Барсуков и др., 1966] пытались объяснить воссоединением разломанных хромосом даже такой феномен, как восстановление жизнеспособности дрожжевых клеток, инкубируемых после облучения в непитательной среде; к этому случаю гипотеза «воссоединения разломанных хромосом», по-видимому, неприложима [Корогодин, 1964].

Математическая теория «воссоединения разломанных хромосом», блестяще разработанная Ли (1963) и позволяющая из опытов по фракционированию рассчитывать среднюю продолжительность жизни «открытых» фрагментов и среднее время полувоссоединения, была впоследствии широко использована разными авторами для изучения «механизмов» этого феномена; во всех подобных опытах фракционированное облучение применяли на фоне дополнительного воздействия на клетки различными температурами, или химическими агентами, или при разных парциальных давлениях кислорода. Очень хорошую сводку результатов подобных исследований опубликовал Ивенс (1966).

Происходит ли в действительности воссоединение разломанных хромосом, а также возникают ли при прохождении ионизирующей частицы через хромосомные нити их разломы, мы до сих пор не знаем. Ивенс, тщательно проанализировав все относящиеся сюда факты и схемы опытов, не считает гипотезу «сначала разлом, затем воссоединение» достаточно надежной для объяснения всей совокупности накопленного в этом разделе радиобиологии фактического материала. К сожалению, ни контактная гипотеза Ривэла ([Revell, 1955], ни матричная гипотеза Н. В. Лучника (1966), развиваемые в последние годы в качестве альтернативы классическим представлениям, не включали еще в свой арсенал влияния фактора времени и не предложили другой интерпретации эффекта уменьшения выхода колец и дицентриков при фракционировании дозы. Однако, каков бы ни был механизм возникновения при облучении хромосомных аберраций, четкое уменьшение выхода некоторых типов хромосомных аберраций при фракционировании или протрагировании дозы не вызывает сомнений.

Столь же неоспоримо влияние фракционирования облучения на инактивацию клеток млекопитающих в культуре. Элкин и Сэттон [Elkind, Sutton, 1959], впервые описавшие этот феномен, а также другие авторы посвятили его изучению большое количество исследований, проводившихся на несинхронизированных и синхронизированных культурах разных клеток млекопитающих, иногда с учетом фаз клеточного цикла, нередко с применением различных дополнительных воздействий — температуры, химических агентов и пр. [Cellular Radiation Biology, 1965]. Не вдаваясь в подробности этих работ и не касаясь зависимости эффекта от фазы клеточного цикла, — явления еще слабо изученного, как мы уже отмечали в гл. 4, — подчеркнем лишь некоторые, наиболее существенные следствия из полученных в этих работах результатов.

Так же, как в случае уменьшения выхода двуразломных аберраций в растительных клетках, уменьшение эффекта дозы при фракционированном облучении клеток млекопитающих изучалось в основном на растущих, т. е. продвигающихся по клеточному циклу, культурах. Так же, как в случае уменьшения выхода двуразлом-

ных aberrаций, различные сопутствующие агенты модифицируют влияние фактора времени на «радиочувствительность» клеток млекопитающих лишь в той мере (по крайней мере, насколько можно судить по имеющимся в литературе сведениям, без проведения специальных

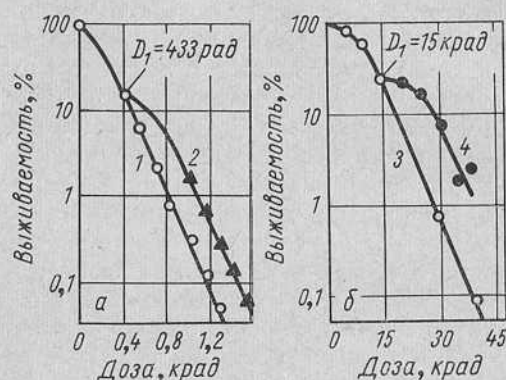


Рис. 43. Восстановление клеток от «сублетальных» повреждений при фракционированном облучении:

a — клетки китайского хомячка в культуре [Элkind и др., 1963]; *б* — диплоидные дрожжи *S. cerevisiae* [Bacchetti et al., 1964]; 1 — выживаемость при однократном облучении; 2 — выживаемость при повторном облучении разными дозами клеток, облученных дозой 433 p и выращивавшихся затем 10.6 ч на питательной среде; 3 — выживаемость при однократном облучении; 4 — выживаемость при повторном облучении разными дозами клеток, облученных дозой 15 krad и выращивавшихся затем 75 мин на питательной среде.

исследований), в какой они способны воздействовать на скорость перехода клеток из одних фаз цикла в другие, т. е. на скорость продвижения клеток по жизненному циклу. Анализ кривых доза—эффект, полученных в опытах с однократным и фракционированным облучением клеток млекопитающих разными дозами, показал, что возрастание выживания этих клеток при фракционированном облучении связано с «восстановлением» их от «подпороговых», «сублетальных», повреждений [Elkind et al., 1963]. Смысловое содержание этого утверждения поясняет рис. 43, *a*: если клетки млекопитающих в культуре облучены дозой $D_1=433 \text{ рад}$, когда значение уровня выживания приходится на экспоненци-

альную составляющую дозовой кривой, то при достаточном интервале времени между этим облучением и дополнительным облучением разными дозами последующий отрезок кривой выживания приобретает такую же форму, как начальный отрезок исходной кривой — наблюдается «восстановление» исходного значения экстраполяционного числа без изменения угла наклона экспоненциальной составляющей. Таким образом, создается впечатление, что клетки млекопитающих в культуре, продвигаясь после облучения навстречу первому пострadiационному митозу, «восстанавливаются» от всех подпороговых лучевых повреждений, т. е. от таких повреждений, наличия которых еще недостаточно, чтобы вызвать гибель или инактивацию клеток.

Подобное же влияние фракционирования облучения описано для некоторых генетических эффектов [Рассел, 1963; Соубелс, Тейтс, 1963], для половых [Окберг, Кларк, 1963] и некоторых соматических клеток млекопитающих в организме [Попова и Булякова, 1966], а также для ряда других объектов, в том числе и для дрожжей разной плоидности [Bacchetti et al., 1964, 1966]. В последнем случае, как показано на рис. 43, б, феноменология эффекта ничем не отличается от таковой для клеток млекопитающих в культуре. Этим обстоятельством можно было воспользоваться для сопоставления особенностей восстановления клеток от подпороговых повреждений при фракционированном облучении с пострadiационным восстановлением клеток в непитательной среде от летальных лучевых повреждений, наиболее полно изученном именно на дрожжевых организмах. Результаты такого сопоставления показали, что между этими феноменами, по-видимому, очень мало общего [Корогодин, 1966].

Действительно, что может объединять эти две формы восстановления, если эффект фракционирования проявляется лишь на растущих объектах (корешки и микроспоры растений, клетки млекопитающих в организме или в культуре, дрожжи на питательной среде), а пострadiационное восстановление очень хорошо осуществляется в клетках, находящихся в «покоящемся» состоянии, т. е. не продвигающихся по митотическому циклу? Если в первом случае происходит восстановление только от подпороговых (сублетальных) поврежде-

ний, а во втором — от летальных последствий облучения? Если в первом случае продвижение клеток по циклу и, следовательно, осуществление биосинтеза белка является весьма существенным условием восстановления, а во втором никак с осуществлением восстановления не связано? Кинетические особенности восстановления в обоих случаях также оказались совершенно различными — в частности, восстановление клеток от подпороговых повреждений не поддается описанию в форме уменьшения эффективной дозы [Корогодин, 1966]. Столь же мало связано с эффектом пострadiaционного восстановления влияние фракционирования облучения на выживание инфузорий, описанное еще Кроузером [Crowther, 1926]. В этом случае уменьшение летального эффекта обуславливается, по-видимому, уменьшением выхода продуктов радиолиза воды, ибо продукты радиолиза воды служат основной причиной ранней гибели таких одноклеточных, обладающих полигеномным макроуклеусом и поэтому чрезвычайно устойчивых к облучению [Граевский и Шульмина, 1960; Зиновьева, 1958].

На основании имеющихся данных можно предположить, что те восстановительные процессы, которые обычно связывают с описанными выше проявлениями фактора времени (а существуют и другие его проявления, как, например, увеличение эффективности облучения при фракционировании дозы), существенно отличаются от той формы пострadiaционного восстановления клеток, которая проявляется при искусственной задержке их размножения и выражается в уменьшении эффективной дозы. К сожалению, количественные закономерности эффекта фактора времени еще крайне мало изучены; в частности, до сих пор еще мало работ, где исследовалось бы влияние фракционирования дозы на выход хромосомных аберраций и летальный эффект в одних и тех же условиях эксперимента, на одном и том же объекте, например клетках млекопитающих в культуре. Столь же слабо изучены гетерогенная радиочувствительность клеток в разных фазах цикла, а также зависимость биологических последствий облучения от условий пострadiaционного культивирования (хотя это утверждение и может показаться парадоксальным на фоне огромного количества опубликованных работ,

посвященных этим феноменам), и совершенно не проанализированы с позиций принципа попадания. Подобный анализ этих явлений, однако, крайне необходим, ибо без проведения его невозможно даже пытаться применять теории мишени и попадания к подавляющему большинству биологических реакций на облучение, а именно ко всем тем реакциям, проявление которых зависит от мощности и фракционирования дозы, увеличивается с возрастанием ЛПЭ используемых излучений и где облучению подвергаются клетки, находящиеся в разных фазах цикла, а для проявления и регистрации эффекта требуется подчас довольно продолжительная инкубация их в условиях, необходимых для их активного функционирования, роста и размножения. Нам кажется, однако, что успехи в изучении по крайней мере двух феноменов — влияния фактора времени и гетерогенной радиочувствительности клеточных циклов — будут тесно взаимосвязаны и обусловлены друг другом и что к анализу их в принципе приложимы такие же подходы, какие были намечены выше в отношении эффекта восстановления и модифицирующего влияния условий культивирования облученных клеток.

8. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

На примере анализа пострадиационного восстановления клеток мы показали приложимость к подобным ситуациям основных положений принципа попадания и перспективность такого подхода для изучения количественных закономерностей модифицирующего влияния на биологическое действие ионизирующих излучений некоторых сопутствующих факторов.

Согласно принципу попадания, распределение по клеткам облученной популяции отдельных элементарных повреждений (последствий дискретных событий попадания) происходит случайно и, следовательно, описывается статистическими закономерностями; если изучаемые единицы реакции связаны с повреждением дискретных уникальных внутриклеточных структур, то вследствие малых размеров последних это распределение будет подчиняться закону Пуассона. Классическое применение принципа попадания сводится к анализу зависимости от дозы излучений с *данном* значением ЛПЭ

частоты осуществления *данного* числа попаданий в *данное* число эффективных объемов *данных* размеров. В случае же применения принципа попадания к изучению количественных закономерностей восстановления предметом анализа служит характер распределения первичных элементарных повреждений (последствий дискретных попаданий) по клеткам облученной популяции при разных дозах облучения и изменение этого распределения (выражающееся, в частности, в изменении соотношения разных форм инактивации) в процессе осуществления пострадиационного восстановления.

В предыдущих главах мы рассмотрели две формы применения принципа попадания в радиобиологии — для анализа кривых доза — эффект, в форме теорий попадания и мишени, и для анализа пострадиационного восстановления клеток. В следующей главе мы отметим еще одну, третью, возможность применения принципа попадания для анализа биологического действия ионизирующих излучений — а именно, для анализа тех реакций на облучение, которые связаны с повреждением не уникальных, а массовых структурных компонентов клетки.

1. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Мы уже отмечали (гл. 1), что первые аргументы относительно применимости принципа попадания в радиобиологии были почерпнуты из сопоставления кривых гибели облученных ионизирующими излучениями одноклеточных организмов и теоретических кривых доза — эффект, рассчитанных на основании принципов попадания и мишени. В частности, для ряда микроорганизмов были описаны так называемые одноударные (выпрямляющиеся в полулогарифмическом масштабе) кривые выживания, хорошо объясняемые допущением, что в этих случаях инактивация одной клетки происходит в результате осуществления одного события попадания в соответствующий эффективный объем. Именно таким образом Ли (1963) склонен был объяснять лучевую инактивацию бактерий *E. coli*, а также ряда вирусов и фагов. Однако с дальнейшим накоплением экспериментальных факторов оказалось, что, во-первых, такие простые кривые выживания отнюдь не всегда наблюдаются для одноклеточных организмов, а во-вторых, что лучевая инактивация клеток — весьма сложный процесс, постепенно развертывающийся во времени.

На рис. 22 мы уже приводили кривые выживания бактерий *E. coli*, облученных в аноксии и в присутствии кислорода после предварительного выращивания в различных условиях. Бак и Александер (1963), ссылаясь на эти данные, пишут, что очень трудно представить, будто число и размер мишеней в реальной живой клетке могли бы варьировать в такой степени, чтобы обеспечить наблюдаемое различие в формах кривых доза — эффект. Эти же авторы, а также Б. Н. Тарусов (1962), апеллируя к тому обстоятельству, что облученная клетка может погибать после нескольких предварительных циклов размножения, высказывали предположение, что облучение вы-

зывает «зарождение» в клетках неких «цепных процессов», или «цепных реакций», лавинообразно нарастающих во времени, и что клетка погибает лишь после того, как содержание в ней токсических продуктов этих процессов или реакций достигнет субпороговых значений; это положение указанные авторы также противопоставляли принципам попадания и мишени.

Однако, как нам кажется, подобного рода возражения против применимости принципов попадания и мишени в радиобиологии основаны на недоразумении. Мы считаем, что приведенные только что аргументы ничего не говорят ни за, ни против применимости этих принципов. Мы уже неоднократно подчеркивали, что принципы попадания и мишени сводятся, по существу, лишь к утверждению фактов квантированности взаимодействия ионизирующих излучений с биосубстратом и гетерогенности клеток живых организмов, гетерогенности в том смысле, что повреждения различных элементарных структур живой клетки отнюдь не равнозначны для ее жизнедеятельности. Однако последствия облучения клеток могут проявляться весьма разнообразно: от возникновения генных и хромосомных мутаций до подавления размножения клеток и гибели их «под лучом», и именно принципы попадания и мишени позволяют четко формулировать вопрос и планировать проверочные эксперименты для выявления тех элементарных внутриклеточных структур, нарушения которых ответственны за те или иные проявления последствий облучения. Мы уже отмечали также, что зависимость форм радиобиологических кривых от различных сопутствующих условий, при оценке такой зависимости с позиций принципа попадания, можно использовать как весьма действенное средство экспериментального и теоретического анализа природы самого события попадания и последующих процессов формирования повреждения реагирующих единиц. В такой же мере анализ развития радиобиологических процессов во времени, вплоть до проявления регистрируемых единиц реакции, может помочь в изучении конкретных механизмов «усиления» первичных повреждений до микро- или макроскопического уровней. В частности, вариабильность кривых выживания некоторых бактерий при облучении их в средах с разным газовым составом и последующим культивированием при разных условиях

в некоторых случаях может свидетельствовать о различной обратимости первичных повреждений, формирующихся с участием кислорода и без него [Alper, 1961], а также о зависимости эффективности пострadiaционного восстановления клеток от состава среды и температуры инкубации [Вальдштейн и Жестянников, 1966]. В такой же мере «запаздывающее» проявление летального действия ионизирующих излучений на оплодотворенные яйцеклетки [Нейфах, 1961] или на дрожжевые организмы [Корогодин, 1964, 1966] может давать некоторую информацию о значении тех или иных ядерных повреждений в жизнедеятельности соответствующих объектов.

Все сказанное в предыдущих главах позволяет нам теперь внести следующее уточнение в понятие «применение принципа попадания в радиобиологии». Совершенно безнадежно пытаться применять этот принцип для вскрытия механизмов радиобиологических реакций любой степени сложности на любых биологических объектах путем математического анализа одних только кривых доза — эффект; к сожалению, мы вынуждены отметить, что некоторые радиобиологи до сих пор склонны вкладывать в это понятие именно такой смысл. Мы считаем, что применять принцип попадания в радиобиологии — это значит, пользуясь всем арсеналом доступных методов эксперимента, а также методом математического анализа кривых доза — эффект и время — эффект, при различных физических свойствах излучений и различных состояниях объектов, пытаться выяснить реальную природу событий попадания, реальные процессы, связывающие первичное поглощение энергии излучений и повреждение реагирующих единиц, а также пытаться установить, что собой представляют эффективные объемы и какие реальные внутриклеточные структуры являются реагирующими единицами, изменение которых необходимо и достаточно для осуществления того или иного регистрируемого радиобиологического эффекта. Принцип попадания, следовательно, является не неким универсальным рецептом для получения скороспелых заключений о механизмах биологического действия ионизирующих излучений путем анализа кривых доза — эффект, но *рабочим принципом*, или, точнее, *методологической основой* для построения наших представлений о природе радиобиологических реакций с использова-

нием всей совокупности накопленных в радиобиологии точных экспериментальных данных.

Это положение хорошо понимали все авторы, внесшие свой вклад в развитие принципов попадания и мишени. Так, Ли (1963) писал, что вывод о том, что данная радиобиологическая реакция обусловливается одной ионизацией (или малым пучком ионизаций) в пределах одной мишени может быть сделан только тогда, когда окажется, что частота проявления соответствующего эффекта нарастает с дозой по одноударному закону; эффективность данной дозы с увеличением ЛПЭ излучений не возрастает; величина радиобиологического эффекта не зависит или мало зависит от мощности и фракционирования дозы, а также от температуры. Продолжительное время считали, что именно такими особенностями отличается возникновение при облучении рецессивных летальных мутаций в X-хромосомах сперматозоидов дрозофилы. Однако, как мы уже отмечали в гл. 2, недавно было показано, что выход этой реакции на облучение повышается на единицу дозы при переходе от рентгеновских лучей (с низкой ЛПЭ) к нейтронам (с высокой ЛПЭ). Если эти данные подтвердятся, будут ли они означать неправильность принципа попадания или неприменимость его к данному случаю? Конечно, нет. В случае подтверждения этот факт может свидетельствовать о том, что в действительности ионный выход данной реакции на одну ионизацию при осуществлении ее в пределах эффективного объема равен не единице, как полагали ранее, а меньше единицы, и границы эффективного объема «размыты»; таким образом, обнаружение этого нового явления в действительности содействует дальнейшей конкретизации и развитию принципа попадания.

Все эти оговорки потребовались нам перед изложением материалов о летальном действии ионизирующих излучений на клетки для того, чтобы у читателя не возникло надежды, будто в этой главе он найдет решение вопроса о механизмах радиобиологических реакций, вызывающих инактивацию и гибель клеток млекопитающих или одноклеточных организмов. Радиобиология в настоящее время еще далека от того момента, когда можно будет однозначно ответить на этот вопрос. Напротив, в этой главе, как и в двух предыдущих, мы хотим проиллюстрировать на избранных примерах сложность реаль-

ной ситуации и трудности, которые в настоящее время стоят перед исследователями, работающими в соответствующих разделах радиобиологии. Кроме того, мы постараемся показать, какие подходы можно наметить к выяснению причин, обуславливающих те или иные формы кривых выживания облученных клеток, используя положения, разработанные на основании принципа попадания.

2. КУМУЛЯТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ОБЛУЧЕНИЯ

Вообще говоря, любую радиобиологическую реакцию можно представить как результат того или иного числа попаданий в соответствующие эффективные объемы реагирующего объекта. Можно представить себе также два крайних случая связи характера выраженности регистрируемой реакции с числом попаданий. Первый случай, подробно рассмотренный в гл. 2 на примере вызывания мутаций, касается той ситуации, когда для возникновения единицы реакции необходимо и достаточно осуществления одного события попадания; при этом с увеличением дозы облучения возрастает не степень выраженности данного эффекта облучения, или, точнее, не степень проявления данной единицы реакции (мутация или возникает, или не возникает), а частота ее появления, или число реагирующих соответствующим образом объектов. Второй крайний случай касается той ситуации, когда для вызывания реакции достаточно попадания в несколько из многочисленных имеющихся в клетке мишеней, а степень проявления реакции увеличивается с накоплением числа пораженных мишеней; очевидно, что в этом случае даже при относительно невысоких дозах облучения регистрируемый эффект будет наблюдаться у большого числа облученных объектов, а степень его проявления должна увеличиваться с ростом дозы. Это так называемое «кумулятивное» действие ионизирующих излучений, с несколькими примерами которого мы сейчас и познакомимся.

Одним из простейших видов реакции на облучение живых клеток может служить лучевое повреждение эритроцитов млекопитающих. «Гибель» таких «клеток» обычно оценивают по наступлению гемолиза — разрыва оболочки эритроцита и выхода содержимого наружу. Об-

лучение в умеренных дозах не вызывает непосредственно гемолиза эритроцитов, но заметно влияет на их устойчивость к различным гемолитическим агентам, например дистиллированной воде, щелочи или кислоте. Об

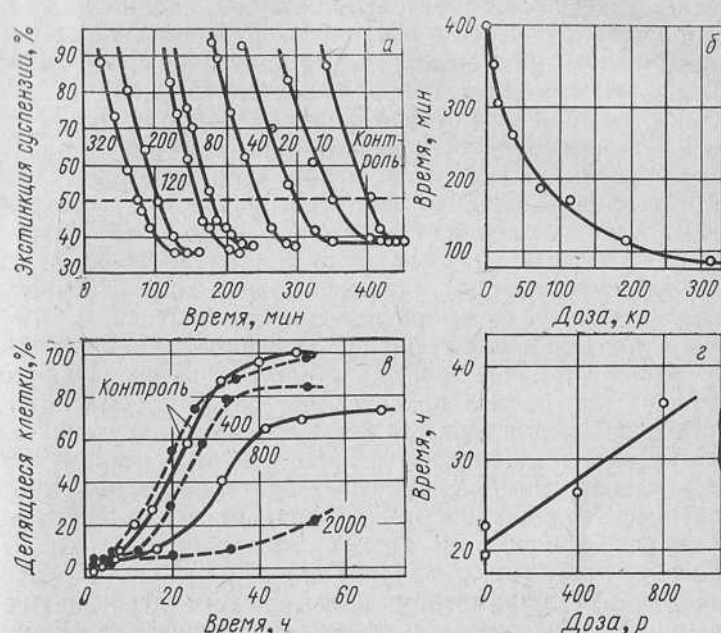


Рис. 44. Кривые время—эффект и доза—эффект для кумулятивных радиобиологических реакций эритроцитов [Тринчер, 1959] и клеток млекопитающих в культуре [Tolmach, 1961]:

а — кинетика щелочного гемолиза эритроцитов крыс, облученных в разных дозах (цифры около кривых соответствуют дозам в кр); б — зависимость времени гемолиза 50% эритроцитов от дозы облучения; в — кинетика первого пострадиационного деления клеток HeLa в культуре после облучения разными дозами (цифры около кривых); г — зависимость времени деления 50% клеток HeLa от дозы облучения.

устойчивости эритроцитов к таким гемолитикам обычно судят на основании форм кривых время—эффект, показывающих зависимость процента гемолизированных или негемолизированных клеток от продолжительности обработки соответствующим агентом.

На рис. 44, а приведены кривые гемолиза в щелочной среде контрольных эритроцитов и эритроцитов, облученных *in vitro* γ -квантами в разных дозах [Тринчер, 1959].

Мы видим, что в данном случае наблюдается именно тот тип реакции на облучение, когда число реагирующих объектов достигает 100% уже при наименьшей из использованных доз, а степень выраженности реакции, одинаковая у всех объектов при любой заданной дозе, увеличивается с ростом последней. Это заключение основано на том простом факте, что облучение лишь сдвигает кривую гемолиза контрольных эритроцитов по оси абсцисс, не изменяя существенно ни ее формы, ни наклона. Такая особенность реакции эритроцитов на облучение становится вполне понятной, если вспомнить, что среднее время гемолиза эритроцитов $t_{50\%}$ при прочих равных условиях зависит от степени «прочности» окружающих их мембран. Отдельные попадания (ионизации или группы ионизаций), повреждая мембрану эритроцитов, уменьшают ее сопротивление гемолитику, и чем сильнее повреждена мембрана — чем больше произошло попаданий — тем быстрее наступает гемолиз. Однако мембрана эритроцита представляет собой весьма крупную «мишень» для квантов ионизирующих излучений, и поэтому вполне понятно, что даже при относительно невысоких дозах мембраны разных эритроцитов получают практически одинаковое число попаданий. Следовательно, кривая зависимости времени полугемолиза $t_{50\%}$ от дозы облучения (см. рис. 44, б) служит в данном случае единственным параметром, описывающим действие излучений на эритроциты, и отражает зависимость «прочности» их мембран (по отношению к данному гемолитику) от числа попаданий, пропорционального заданной дозе.

Интересно, что зависимость степени устойчивости клеток по отношению к внешним неблагоприятным условиям от дозы предварительного облучения не является привилегией одних только безъядерных клеток — эритроцитов. Так, при инкубации *in vitro* при 37° С ядродержащих клеток костного мозга динамика их отмирания и автолиза описывается кривой, выпрямляющейся в пробит-логарифмическом масштабе; предварительное облучение костного мозга большими дозами γ -квантов вызывает ускорение гибели и распада таких клеток. То же самое происходит при инкубации вне организма стволовых клеток костного мозга, так называемых CFU (Clon formation units), с той лишь разницей, что утрата их

функциональной активности наступает быстрее, чем наблюдается лизис других ядродержащих костномозговых клеток, и значительно сильнее ускоряется при облучении [Харламова и Холева, 1966]. Наконец, аналогичную ситуацию можно наблюдать, облучая дрожжи, яйцеклетки разных животных или клетки млекопитающих в культуре и регистрируя сроки их деления [Корогодин, 1964]. Во всех этих случаях при каждой данной дозе облучения происходит примерно одинаковая задержка деления у всех клеток облученной популяции, и продолжительность этой задержки увеличивается с дозой. Для иллюстрации этого типа биологического действия излучений на рис. 44, в приведены кривые первого пострadiационного деления клеток HeLa в культуре [Tolmach, 1961], а кривая рис. 44, г описывает зависимость времени деления 50% клеток от дозы облучения.

Хотя причины, ускоряющие отмирание облученных ядродержащих клеток костного мозга при инкубации их вне организма и, тем более, причины, обуславливающие торможение деления облученных клеток, по-видимому, существенно отличаются от причин, ответственных за ускорение гемолиза облученных эритроцитов, мы в данном случае хотим подчеркнуть общность количественных закономерностей всех этих феноменов: равномерность проявления степени выраженности эффекта у подавляющего большинства особей популяции, облученной в данной дозе, и усиление степени проявления эффекта у всех этих особей с увеличением дозы облучения. Рассматривая эти закономерности с позиций принципа попадания, можно утверждать, что во всех подобных случаях бесполезно искать уникальные клеточные микроструктуры, единственное попадание в которые вызывает регистрируемый эффект. Эффект облучения во всех этих случаях связан, конечно, с множественными повреждениями в результате ионизации массовых структурных компонентов клеток — оболочек в первом случае, а, возможно, отчасти и во втором, и каких-то массовых компонентов ядра в третьем. Каковы эти структуры в действительности, покажут дальнейшие исследования. В данном же случае для нас важен лишь тот факт, что даже простое рассмотрение количественных закономерностей разных типов реакций на облучение позволяет иногда довольно однозначно связать их с повреждением

в результате попаданий единичных уникальных внутриклеточных структур (в случае генных или хромосомных мутаций) или массовых компонентов клетки (в случаях гемолиза эритроцитов или торможения клеточного деления).

При рассмотрении летального действия ионизирующих излучений на клетки, к которому мы сейчас приступаем, следует учитывать, что в зависимости от специфики объекта и условий эксперимента превалирующее значение может приобретать то один, то другой из этих механизмов.

3. ФОРМЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ЛУЧЕВОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК

Разнообразие форм проявления
лучевой инактивации клеток

Анализируя кривые доза — эффект для летального действия ионизирующих излучений на клетки, необходимо учитывать то обстоятельство, что у облученных клеток могут наблюдаться весьма различные формы гибели или инактивации. Облученная клетка может погибнуть «под лучом» или вскоре после облучения (что обычно происходит при очень высоких дозах), причем эта форма гибели иногда сопровождается разрывом клеточной оболочки и выбросом содержимого клетки наружу. Клетка может погибнуть также вскоре после облучения по типу пикнотической дегенерации ядра или, не проявляя в этой форме лучевого поражения, утратить способность к делению и погибнуть в более отдаленные сроки без попытки вступить в митоз. Облученная клетка может погибнуть «при попытке вступить в митоз», что обычно сопровождается микроскопически выраженными нарушениями деления ядра. Клетка может «погибнуть» после нескольких циклов деления, произведя несколько вегетативных поколений неспособных к дальнейшему размножению потомков, а яйцеклетка — после значительного числа циклов дробления. Наконец, одна и та же облученная клетка может давать начало как жизнеспособным, так и обреченным на гибель особям, и поэтому нередко в разряд «способных к бесконечному размножению» клеток попадают те из них, у которых лишь один-два потомка из нескольких десятков обладают этим свойством.

Вообще явление частичной инактивации, а также другие формы поражения тех клеток, которые обычно относят в разряд выживающих, — очень интересный радиобиологический феномен. Дело в том, что макроколонии, образующиеся из облученных клеток, нередко существенно отличаются от контрольных. Это отличие проще всего выявить, измеряя размеры таких колоний и строя соответствующие кривые распределения [Корогодин, 1966]. Синклер [Sinclair, 1964] специально изучал этот вопрос на культурах клеток млекопитающих следующим образом. Из нескольких крупных и мелких колоний, сформировавшихся из облученных клеток, были выведены субклоны. Клоны из крупных колоний, выросших из облученных клеток, почти не отличались от исходной популяции ни по скорости размножения, ни по эффективности посева (способности к клонообразованию) и радиочувствительности входящих в эти клоны клеток. Клоны, полученные из мелких колоний, размножались примерно в три раза медленнее, чем контрольные, эффективность посева составляющих их клеток была всего 20—40%, а радиочувствительность была существенно повышена. Эти особенности мелких колоний, однако, не были постоянными и исчезали через несколько недель культивирования. По-видимому, такое явление свойственно не только клеткам млекопитающих, но и другим объектам, ибо существенные, но постепенно затухающие вариации в радиочувствительности сублиний, выделенных из облученных диплоидных дрожжей, были описаны Тобиасом (1955), а недавно было показано, что колонии разных размеров, выросшие из облученных дрожжей, различаются между собой не только по радиочувствительности, но и по содержанию клеток разной терморезистентности [Капульцевич, 1967]. По-видимому, положение, согласно которому по крайней мере некоторые клетки облученной популяции могут образовывать клоны, в которых лучевые повреждения передаются потомкам облученных клеток на протяжении многих поколений, может распространяться на многие биологические объекты. Относятся ли эти повреждения к мутациям в истинном смысле слова, сказать трудно, хотя в литературе и были описаны случаи, когда в соматических клетках животных, развивавшихся из облученных зигот, а также в тканях растений, выросших из облученных се-

мян, находили повышенное количество хромосомных aberrаций.

Картина проявления летального действия ионизирующих излучений на клетки еще более усложняется, если вспомнить (см. гл. 5), что существуют лучевые повреждения, летальные при одних условиях пострadiaционного культивирования клеток и нелетальные — при других, и принять во внимание, что соотношение разных форм инактивации у клеток, облученных в данной дозе, также может зависеть от условий культивирования. Поэтому, анализируя кривые выживания облученных клеток, необходимо всегда иметь в виду, какие формы инактивации им присущи и каковы были условия культивирования клеток до и после воздействия данным видом ионизирующих излучений. Только учет совокупности всех этих фактов позволяет в некоторых случаях делать более или менее обоснованные предположения о механизмах, обуславливающих лучевую инактивацию тех или иных клеток.

Летальные эффекты генерализованного повреждения цитоплазмы и ядра

Один из авторов принципов попадания и мишени, Кроузер [Crowther, 1926] первым описал летальное действие ионизирующих излучений на инфузории и попытался интерпретировать соответствующую кривую доза — эффект. Объектом исследования Кроузеру служили, как мы уже упоминали, инфузории *Colpidium colpoda*, за которыми можно легко наблюдать в микроскоп при небольшом увеличении. На рис. 45, а приведены три кривые выживания, полученные Кроузером для различных сроков после облучения этих одноклеточных животных рентгеновскими лучами. Согласно расчетам, эти экспериментальные данные хорошо соответствуют модели «много попаданий в одну мишень» при значениях: $n=49$ попаданий для гибели тотчас после облучения (кривая 1) и $n=42$ попадания для гибели через 1 ч после облучения (кривая 2). Если за одно попадание считать одну ионизацию, то размер мишени оказывается равным объему шара с диаметром около $4 \cdot 10^{-5}$ см.

Однако, означают ли результаты этих расчетов, что облученные *Colpidium colpoda* действительно погибают

после осуществления 40—50 попаданий в некий участок их тела, равный $4 \cdot 10^{-5}$ см в диаметре? Конечно, нет. «Тот факт, — писал Кроузер, — что кривая выжи-

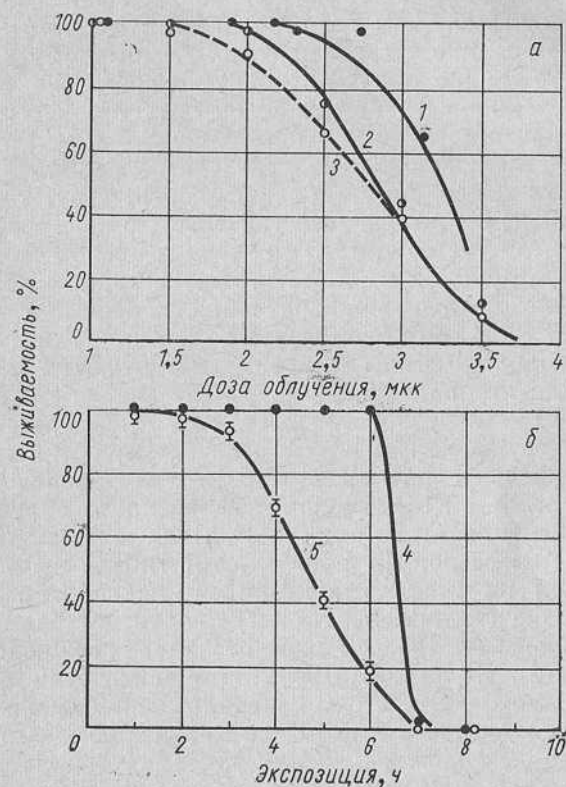


Рис. 45. Кривые выживания *Colpidium colpoda* [Crowther, 1926] и *Dunaliella salina* [Ralston, 1936]:

а — выживаемость *Colpidium colpoda*, полученная сразу после прекращения облучения (1), через 1 ч (2) и через 2 ч (3). Дозы облучения выражены в микрокулонах (мкк): 1 мкк $\approx 25,4$ рад; б — выживаемость *Dunaliella salina*, полученная сразу после облучения (4) и по прошествии времени, необходимого для полного проявления эффекта, (через 16—44 дня) в зависимости от дозы (5). Доза облучения выражена в продолжительности экспозиции.

вания имеет форму, предсказанную теорией, отнюдь не исключает других объяснений, если они так же хорошо соответствуют полученным результатам. Если принять,

что для *Colpidium colpoda* необходима в среднем доза $3,26 \text{ мкк}^1$, чтобы вызвать их гибель, но, вследствие биологической вариабельности, для некоторых индивидуумов требуется доза, несколько большая или несколько меньшая, чем средняя, и если допустить, что эти вариации около средней следуют обычному закону ошибок, то можно получить кривую выживания, в пределах ошибки опыта не отличающуюся от экспериментальной кривой».

Второе предположение Кроузера, конечно, в рассмотренном здесь случае больше соответствует истинному положению вещей. Действительно, с какой формой инактивации клеток имел он дело в своих опытах? Кривая 1 на рис. 45 соответствует регистрации эффекта сразу после прекращения облучения, а кривые 2 и 3 — через 1 и 2 ч. Это, следовательно, типичный случай гибели «под лучом» или вскоре после облучения. Именно «гибели», а не инактивации (утраты способности к размножению) — инфузории переставали двигаться, приобретали грушевидную или сферическую форму, сильно увеличивались в размерах и вакуолизировались. Отдельные особи, не погибавшие вскоре после облучения, восстанавливали затем нормальный вид и подвижность.

Сейчас известно, что подобный тип гибели инфузорий обусловлен не столько ионизацией их протоплазмы, сколько токсическим действием продуктов радиолиза воды [Зиновьева, 1958], в частности перекиси водорода [Граевский и Шульмина, 1960]. Этот тип гибели, следовательно, можно отнести к генерализованному повреждению всей клетки в целом, по сравнению с которым локальные нарушения тех или иных внутриклеточных структур вряд ли имеют существенное значение.

Некоторые инфузории, например *Tillina magna* и *Colpoda* sp., не погибающие вскоре после облучения, могут отличаться от контрольных более замедленным темпом размножения, причем после нескольких циклов деления наступает либо нормализация этого процесса, либо гибель клеток; такая «отдаленная гибель» происходит обычно между 4 и 14 делениями клетки-родоначальницы [Bridjman, Kimball, 1954]. Кривая доза — эффект, описывающая зависимость от дозы этой формы

¹ Доза, примерно соответствующая 83 крад .

поражения, имеет сильно изогнутую («многоударную») форму с LD_{50} около 35 кр (для *Tillina magna*). Эта форма инактивации связана, скорее всего, с нарушениями ядерного аппарата, носящими генерализованный характер. Об этом свидетельствует как форма кривой выживания, так и то обстоятельство, что у инфузорий, обладающих макронуклеусами — ядрами, содержащими десятки, а то и сотни хромосомных наборов, — даже грубые структурные (локальные) нарушения хромосом не являются летальными для вегетативно размножающихся особей, хотя и возникают, конечно, при облучении. Последнее подтверждается тем фактом, что для парамеций, не погибших после облучения и испытавших множество делений, летальным может оказаться процесс аутогамии, когда макронуклеус исчезает и новый ядерный аппарат воссоздается за счет микронуклеуса: здесь проявляется летальное действие даже рецессивных точковых мутаций, частота выхода которых линейно возрастает с увеличением дозы (одноударная кривая!).

Лучевая инактивация клеток, связанных с генерализованным повреждением ядра, может, по-видимому, проявляться и без предшествующих делений, когда клетка погибает через много дней после облучения без попытки вступить в митоз. Именно с таким случаем, вероятно, встретился Рэлстон [Ralston, 1939] в опытах с *Dunaliella salina*. Облучая эти водоросли рентгеновскими лучами и подсчитывая количество живых особей сразу после облучения и на протяжении последующих 16—44 дней (в зависимости от дозы), Рэлстон получил две кривые выживания (рис. 45, б), описывающие немедленный и отдаленный эффекты. Расчеты показали, что кривая 4 (гибель вскоре после облучения) хорошо соответствует «многоударной реакции» при значениях $n_1=330$ попаданий и $\alpha_1=50$ (относительный размер мишени), а кривая 5 (полное проявление эффекта) — при значениях $n_2=12$ и $\alpha_2=2,5$. Полагая, что коэффициент α отражает размеры эффективного объема, попадания в который обуславливают гибель клетки, и найдя, что отношение $\alpha_1/\alpha_2=50/2,5=20$, что весьма близко к отношению у *Dunaliella salina* среднего объема, занятого цитоплазмой, к среднему объему ядра (это отношение равно 23,4), Рэлстон высказал предположение, что у этого объекта немедленная гибель наступает в результате общего дей-

ствия излучений на клетку, тогда как отдаленный эффект есть следствие поражения ядра, вероятно, через повреждение механизма митоза. Отметим, что в данном случае расчеты, выполненные с позиций принципов попадания и мишени, не столько доказывают, сколько иллюстрируют это предположение.

Отдаленную гибель клеток вследствие генерализованного повреждения ядра удобно наблюдать на оплодотворенных яйцеклетках некоторых животных: рыб, моллюсков и других [Нейфах, 1961]. Высокие дозы рентгеновских лучей, равные десяткам и сотням килорентген, полностью разрушают ядра таких клеток при облучении вскоре после оплодотворения или на ранних стадиях дробления, и тем не менее такие клетки способны «поделиться» еще несколько раз. Эти наблюдения, наглядно иллюстрирующие устойчивость к облучению цитоплазмы клетки по сравнению с ее ядром, показывают также, что сам по себе факт отдаленной инактивации — после нескольких циклов деления — еще не может служить доказательством того, что подобная форма лучевого поражения обязана структурным нарушениям хромосом или точковым (генным) мутациям, т. е. генетическим эффектам облучения. Таким образом, повреждение ядра и мутация — понятия разного объема, и если мутации, как правило, бывают обусловлены повреждениями ядерного аппарата, то такие эффекты облучения, как полная деструкция ядра или слипание хромосом в комок во время митоза, отнюдь не относятся к генетическим эффектам.

Относительное значение для жизни клетки ядерных и цитоплазматических лучевых повреждений прекрасно вскрывают опыты Б. Л. Астаурова (1947) и В. А. Струникова (1960), выполненные на грене тутового шелкопряда и основанные на комбинациях облученной цитоплазмы с необлученным ядром или облученной цитоплазмы с облученным ядром. В первом случае летальное действие облучения связано с повреждениями цитоплазмы, во втором — главным образом с повреждениями ядра; отношение изоэффективных доз для обоих этих эффектов облучения оказывается еще более высоким, чем в случае с *Dunaliella salina*. Весьма вероятно, что в случае облучения и ядра и цитоплазмы, особенно в интервале частично летальных доз, гибель зародышей

в облученной грене обусловлена в значительной мере не столько генерализованным повреждением ядерного аппарата, сколько структурными нарушениями хромосом и, быть может, точковыми мутациями; об этом, в частности, свидетельствует тот факт, что гибель нередко наступает уже после формирования у зародышей серозной оболочки. Оплодотворенные яйца шелкопряда, как правило, диплоидны, а с уменьшением числа хромосомных наборов вероятность пагубного влияния локальных повреждений хромосом должна возрастать.

**Лучевая инактивация клеток млекопитающих в культуре
и некоторых дрожжевых организмов**

С уменьшением степени плоидности клеток кривые выживания приобретают, как правило, более пологую форму и степень ударности таких кривых уменьшается. На рис. 46 приведено несколько кривых выживания клеток млекопитающих и дрожжей, имеющих два или больше хромосомных наборов. Форма этих кривых делает их весьма привлекательными объектами для анализа с позиций принципов попадания и мишени. Это — типичные кривые выживания, которые можно однозначно охарактеризовать двумя параметрами: величиной экстраполяционного числа n , аналогичного степени ударности кривых (согласно модели «много одноударных мишеней»), и значением D_0 , равным дозе, приводящей к уменьшению в $e=2,72$ раза выживания клеток на прямолинейном участке кривой доза — эффект, изображенной в полулогарифмическом масштабе. Очевидно, что величина D_0 согласно этой модели обратно пропорциональна поперечному сечению инактивации одной такой мишени. В табл. 15 приведены значения n и D_0 для нескольких линий клеток человека, мыши и китайского хомячка, а также для нескольких штаммов дрожжевых организмов. Видно, что значения n колеблются обычно от 2 до 15 для клеток обеих групп, в то время как значения D_0 отличаются в среднем в 100 раз.

Низкие значения экстраполяционных чисел кривых выживания многих клеток млекопитающих (в культуре *in vitro* и *in vivo*), а также большинства штаммов дрожжей с двумя — шестью хромосомными наборами позволяют предположить, что в основе летального действия излучений на эти клетки лежит повреждение неболь-

шого количества уникальных элементарных внутриклеточных структур. Учитывая общеизвестные сведения об относительной радиорезистентности ядра и цитоплазмы (в отношении вызывания летального эффекта), можно

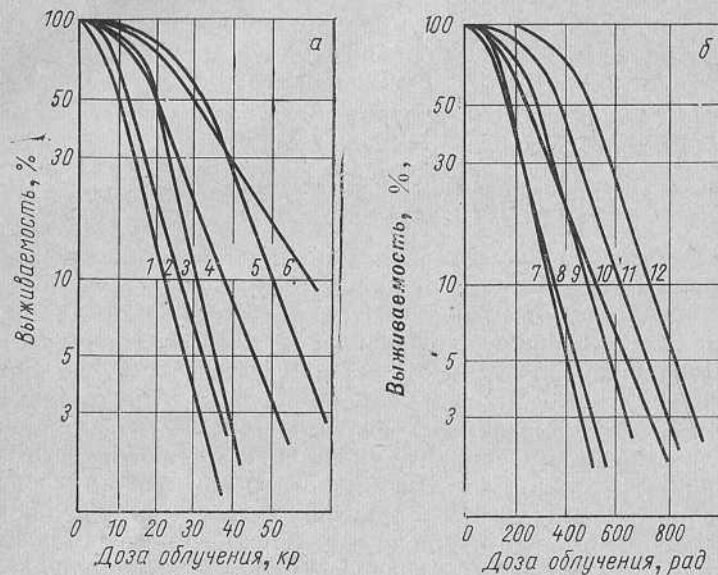


Рис. 46. Выживаемость дрожжей [по: Корогодин, 1966] и клеток млекопитающих (кривые построены по значениям n и D_0 , приведенным в работе [Whitmore, Till, 1964]):

a — выживаемость дрожжей *Sacc. vini*, Мегри-139В (кривая 3) и *Sacc. cerevisiae*; b — выживаемость клеток млекопитающих: дрожжи, разные штаммы: 1 — XII раса; 2 — X362; 4 — X323; 5 — X321 и 6 — 16х32, клетки человека: 7 — HeLa; 10 — эмбриональное легкое; клетки китайского хомячка: 9 — А, 11 — V.79.1; клетки мыши: 8 — костный мозг (CFU), 12 — L-P59.

с большой долей уверенности утверждать, что эти структуры локализованы в ядре. Зная, далее, что рецессивные летальные мутации в гетерозиготном состоянии, как правило, безвредны и вероятность возникновения таких мутаций в гомологичных локусах двух и более хромосом — величина крайне низкая, можно полагать, что в подобных случаях летальный эффект обусловлен более грубыми повреждениями ядерного аппарата, например структурными нарушениями хромосом. Логарифмическая форма кривых выживания таких клеток на

Таблица 15

Значения экстраполяционного числа n и средней летальной дозы D_0 для кривых выживания разных штаммов дрожжей [Корогодин, 1966] и клеток млекопитающих [Whitmore, Till, 1964]

Объект	Штамм, линия	n	D_0	Среднее D_0
S. vini S. cerevisiae	Мегри-139В	13	7,1 кр	$12,3 \pm 3,5$ кр
	X321, диплоид	12	10,7	
	X323, тетраплоид	3	10,6	
	X362, гексаплоид	2,1	9,0	
	16×32, тетраплоид	2,4	29,0	
	XII раса, диплоид	2	7,3	
Клетки человека Клетки китайского хомячка Клетки мыши	HeLa	5	102 рад	131 ± 11 рад
	HeLa S.—3—91V	2	88	
	Эмбриональное легкое	2	166	
	Н. Ер. 1	10	130	
	V-79-1	6	145	
	A	4,5	128	
	L-P59	12	126	
	L-109	2	280	
	Костный мозг (CFU)	2	115	
	Селезенка (CFU)	2,7	70	
	Асцит Эрлиха (гипотет- раплоид)	15,4	114	
	Асцит Эрлиха (гипо- диплоид)	2,4	109	

большом интервале доз, с одной стороны, и характер их пострадиационной гибели, с другой, как будто хорошо согласуются с таким допущением. Действительно, и клетки млекопитающих в культуре, и дрожжи гибнут вследствие облучения, как правило, после одного или нескольких циклов размножения, образуя при невысоких дозах формы инактивации, состоящие из 10—50 потомков облученной особи; формально качественные особенности таких форм инактивации, а также различных вариантов «частичной инактивации» облученных клеток можно непротиворечиво объяснить различными комбинациями хромосомных aberrаций [Корогодин, 1966]. Однако достаточно ли эти аргументы убедительны, чтобы можно было считать хромосомные aberrации того или иного типа если не единственной, то

хотя бы основной причиной лучевой инактивации диплоидных и полиплоидных (но не полигеномных или многоядерных!) клеток?

Бендер и Вольф [Bender, Wolff, 1961] специально проанализировали этот вопрос в отношении клеток млекопитающих в культуре. Этот объект крайне удобен для такого анализа, ибо позволяет корректно определять кривые выживания и учитывать выход и распределение по клеткам различных хромосомных аномалий, проявляющихся в первом пострadiaционном митозе; у дрожжей наблюдения последнего рода осуществить невозможно.

Анализируя вопрос о том, можно ли связать лучевую инактивацию клеток млекопитающих с двуразломными хромосомными абберрациями, Бендер и Вольф пришли к следующим выводам. Во-первых, оказалось, что зависимость выживания клеток млекопитающих от дозы лучше описывается не простой сигмоидной кривой, чего следовало бы ожидать при сделанном выше допущении, а сложной кривой, содержащей как одноударный, так и многоударный компоненты. Во-вторых, анализ кривой уменьшения (с увеличением дозы облучения) числа клеток, не содержащих двуразломных хромосомных абберраций, показал, что форма такой кривой не согласуется с гипотезой, согласно которой повреждение этого типа являются основной причиной летального эффекта ионизирующих излучений. Авторы приходят к выводу, что пострadiaционную гибель клеток, по крайней мере тех, у которых кривые выживания имеют экстраполяционные числа, превышающие единицу, помимо хромосомных абберраций могут вызывать также повреждения центриолей или ядрышек, а может быть, и некоторых других цитоплазматических структур. Этот вывод подтверждается как будто и тем наблюдением, что некоторые облученные клетки могут вступать в митоз, но неспособны его завершить, и не потому, что этому препятствуют какие-либо хромосомные абберрации, а потому, что из-за каких-то повреждений самого механизма деления (например, веретена) они не могут перейти от метафазы к анафазе.

Таким образом, судя по накопленным к настоящему времени данным, лучевая инактивация клеток с двумя и более хромосомными наборами может быть следст-

нием первичного повреждения нескольких различных элементарных внутриклеточных структур (в основном, по-видимому, уникальных), отличающихся как своими биологическими функциями, так и микрогеометрическими параметрами (числом, размерами, формой). Путем анализа одних только кривых выживания, конечно, никогда не удастся решить вопрос, каким именно нарушениям и каким именно внутриклеточным структурам принадлежит ведущая роль в этом эффекте облучения у того или иного объекта. Очень трудно решить вопрос и путем сопоставления кривых клеточной инактивации с кривыми накопления в клетках разных хромосомных аномалий, регистрируемых в первом после облучения митозе. Действительно, однородные по типу аномалии, например хромосомные фрагменты, могут иметь разное значение для жизнеспособности клеток, в зависимости от качественных характеристик утрачиваемого клеткой генетического материала, от их распределения между дочерними особями облученной клетки. Идеальным подходом к решению этого вопроса были бы прижизненные наблюдения за состоянием ядерного аппарата делящейся облученной клетки с последующей регистрацией ее судьбы, вплоть до образования той или иной формы инактивации или нормальной колонии; однако подобного рода эксперименты по техническим причинам в настоящее время еще неосуществимы. Анализ же кривых выживания для выяснения природы первичных событий, вызывающих лучевую инактивацию клеток, у многих объектов еще более осложняется тем, что различные лучевые повреждения, как летальные, так и сублетальные, могут быть обратимыми. Соотношение обратимых и необратимых повреждений, а также интенсивность пострадиационного восстановления клеток могут зависеть от их физиологического состояния, фазы клеточного цикла и ряда других обстоятельств.

Это, в свою очередь, может очень существенно влиять на параметры кривых доза — эффект, особенно если способность к восстановлению сама зависит от дозы облучения, ее мощности, фракционирования и ЛПЭ ионизирующих частиц. Таким образом, использовать математический аппарат теорий попадания и мишени для выявления числа и размеров структур, ответственных за лучевую инактивацию клеток, в таких случаях

вряд ли целесообразно как ввиду отсутствия у нас надлежащих сведений о природе этих структур, так и вследствие нашего незнания, в большинстве случаев, физического содержания понятия «попадание».

Именно в связи с этой неопределенностью в интерпретации кривых выживания и возникло стремление еще больше формализовать количественный анализ летального эффекта облучения на клетки, нежели это допускает математический аппарат теорий попадания и мишени.

Одним из шагов в этом направлении было предложение Альпер и др. [Alper et al., 1960] при описании формы кривых выживания вместо термина *ударность* пользоваться термином *экстраполяционное число*. (Напомним, что термин *ударность* связан с предположением, будто степень изогнутости кривой выживания непосредственно отражает число ударов или число попаданий, необходимых для инактивации клетки.) По величине экстраполяционного числа равно значению показателя степени n в уравнении $S = 1 - (1 - e^{-aD})^n$; значение n можно найти путем экстраполяции прямолинейного отрезка кривой выживания, изображенной в полулогарифмическом масштабе, до пересечения с осью ординат. В большинстве случаев термин экстраполяционное число имеет только констатационный смысл. Это означает, прежде всего, что природа факторов, обуславливающих ту или иную величину экстраполяционного числа, требует в каждом конкретном случае специального изучения и обсуждения.

Другим шагом в этом же направлении можно считать попытку Уитмора и Тилла [Whitmore, Till, 1964] сформулировать стохастическую концепцию лучевого поражения клеток, используя для этого раздел теории вероятности, разработанный для описания «процесса рождения и смерти». Согласно этой концепции, различные проявления лучевого поражения клеток, в частности, разные формы инактивации, феномен «частичной инактивации» и торможение роста облученной популяции обусловлены не различными первичными повреждениями, испытываемыми клетками, например, в результате попадания в те или иные элементарные структуры, но каждая из этих реакций может быть проявлением одного и того же типа и даже одной и той же степени

повреждения всех клеток облученной популяции. Не обсуждая возможных механизмов такого повреждения, авторы приписывают ему одно-единственное свойство — снижать вероятность p_2 успешного осуществления клеткой следующего деления. Согласно допущению этих авторов, значение p_2 зависит только от дозы и одинаково для всех клеток облученной гомогенной популяции, а также для всех потомков их последующих генераций. Пользуясь методом Монте-Карло, можно для различных значений p_2 рассчитать содержание в популяции числа клеток, способных к бесконечному размножению, разных форм инактивации (без деления или, например, на стадии 32-клеточной колонии), а также среднюю скорость размножения популяции и эффективность посева входящих в нее клеток после разного числа циклов пострадиационного деления. Все эти величины можно получить в эксперименте, и, следовательно, описанная концепция допускает экспериментальную проверку.

Положительной стороной этой концепции является попытка единообразно объяснить различные формы проявления пагубного действия на клетки ионизирующих излучений. Однако расчеты значения p_2 по таким радиобиологическим эффектам, как средняя скорость размножения популяции клеток и содержание в ней инактивированных особей, зарегистрированных в одних и тех же экспериментах, на одних и тех же облученных образцах, дали значительное расхождение. Кроме того, одним из следствий концепции является постоянство торможения размножения облученной популяции на протяжении многих клеточных генераций; в действительности же такое торможение отнюдь не постоянно, но постепенно уменьшается и, наконец, исчезает. Ввиду этого сами авторы рассматриваемой концепции вынуждены были признать, что значение p_2 не может быть одинаковым для всех клеток, облученных в данной дозе, но имеет какое-то распределение, обусловленное степенью поврежденности отдельных клеток, и, кроме того, с течением времени происходит элиминация из популяции клеток, характеризующихся более низкими значениями p_2 .

Очевидно, подобное усложнение исходной концепции, вызванное сопоставлением ее следствий с экспериментальными данными, лишает эту концепцию как всей

первоначальной стройности, так и эвристического значения. Действительно, если величина p_2 не одинакова для всех клеток облученной популяции, но зависит от степени их первичной пораженности, то это обстоятельство опять возвращает нас к вопросу о том, поражение *каких* внутриклеточных структур вследствие *какого* числа попаданий ответственно за то или иное проявление лучевой патологии клетки. Мы уже видели выше, что ответить на этот вопрос для целого ряда случаев сейчас еще невозможно.

**Связь между радиочувствительностью клеток
и размерами генетического аппарата**

Таким образом, вопрос о природе тех внутриклеточных структур, повреждения которых ответственны за лучевую инактивацию клеток, не обладающих полигеномными ядрами, и к настоящему времени не продвинулся дальше утверждения, что структуры эти локализованы в клеточном ядре или как-то связаны с клеточными ядрами. Мы уже упоминали о некоторых экспериментальных фактах, подтверждающих это положение; разносторонняя аргументация этого положения, а также история соответствующих исследований приведены в работе Б. Л. Астаурова (1963).

Признание ведущей роли поражения клеточного ядра в лучевой инактивации клеток, не только ограничивает поиски соответствующих «мишеней» внутриядерными или связанными с ядром элементарными биологическими структурами, но и проливает некоторый свет на проблему радиочувствительности ряда живых организмов, что не менее важно в аспекте применения в радиобиологии принципов попадания и мишени. Действительно, если признать, что для лучевой инактивации большинства клеток достаточно локального повреждения ограниченного числа элементарных биологических структур, связанных с ядром, то средние размеры мишени, или эффективного объема, могут возрастать пропорционально размеру ядра; тогда клетки, обладающие крупными ядрами, при прочих равных условиях будут более радиочувствительными, чем клетки с мелкими ядрами. В качестве экспериментальной проверки этого следствия из ядерной концепции лучевой инактивации клеток можно привести результаты многолетних исследований

Сперроу [Evans, Sparrow, 1961; Sparrow, 1965] по изучению радиочувствительности высших растений разных видов.

Сперроу в опытах использовал более 50 видов высших растений, древесных и травянистых. Растения подвергали острому или хроническому γ -облучению. Показателями эффекта служили гибель растений или подавление роста. Лучевое поражение растений связано главным образом с лучевым поражением их клеток, и поэтому радиочувствительность растений, измеренную таким способом, можно считать довольно непосредственным показателем радиочувствительности их клеток. Различные виды растений, использованных Сперроу, отличались по радиочувствительности более чем в 100 раз — летальные дозы острого облучения варьировали от 600 до 75 000 *p*.

Растения разных видов, использовавшиеся в этих опытах, различались между собой не только по радиочувствительности, но и по числу хромосом, содержанию ДНК и размерам интерфазных ядер. Сопоставление изоэффективных доз с размерами ядер или объемами интерфазных хромосом растений показало, что обе величины находятся в обратной пропорциональной зависимости. Хотя радиочувствительность древесных и травянистых растений, обладающих одинаковыми по размерам ядрами, отличалась в 2—2,6 раза при остром облучении и более чем в 10 раз при хроническом облучении, зависимость изоэффективных доз от объема интерфазных хромосом в пределах каждой из этих групп растений и для каждого типа воздействия описывается прямой линией с коэффициентом регрессии, не отличающимся достоверно от -1 (рис. 47). Это означает, что для лучевого поражения клеток растений существенна не столько величина удельной поглощенной дозы (например, на 1 г ткани), сколько величина энергии излучения, поглощенной ядерным аппаратом. Обратная пропорциональность изоэффективных доз размерам хромосомного аппарата означает, как отмечает Сперроу, что среднее количество энергии, абсорбированной хромосомами при экспозициях, необходимых для вызывания данного эффекта, примерно постоянно в пределах каждой растительной группы, т. е. для деревьев и трав. Этот факт, в свою очередь, свидетельствует о том,

что первичное действие излучений, обуславливающее лучевое поражение клеток растений, «... определяется не повреждением или инактивацией некоторого количества (в процентах) молекул ДНК на хромосому, но индукцией некоторого числа каких-то критических собы-

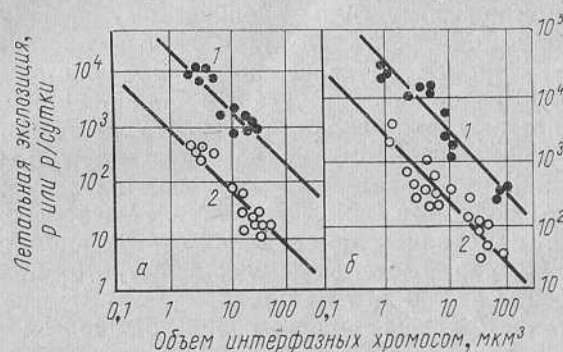


Рис. 47. Зависимость радиочувствительности древесных (а) и травянистых (б) растений от объема интерфазных хромосом [по: Sparrow, 1965]:

1 — острое облучение (экспозиция в r); 2 — хроническое облучение (экспозиция в $r/сутки$). Точками нанесены данные для растений разных видов.

тий» [Sparrow, 1965]. Сперроу избегает конкретизировать природу этих «критических событий», по-видимому, по той простой причине, что, как мы видели выше, в настоящее время на этот счет можно высказывать лишь более или менее обоснованные предположения.

Закономерность, установленная Сперроу и сводящаяся к тому, что радиочувствительность растений возрастает при прочих равных условиях с увеличением размеров ядер их клеток, имеет, по-видимому, более широкое значение, нежели только по отношению к растительным объектам. Конечно, такая корреляция должна наиболее ярко проявляться в пределах родственных групп организмов, где связь первичных повреждений с регистрируемыми радиобиологическими реакциями в сходной мере модифицируется такими осложняющими обстоятельствами, как эффект восстановления, влияние физиологического состояния и других особенностей объекта, а также условий культивирования, на проявление повреждений. Действительно, среди высших рас-

тений, как показал Сперроу, травы более устойчивы к облучению, чем древесные породы, а в пределах полиплодных серий родственных видов растений радиочувствительность не повышается с плоидностью, т. е. с увеличением количества хромосомного материала и размеров ядер, а убывает [Sparrow, 1965]. Последнее может быть обусловлено как чисто генетическими причинами — ослаблением проявления летального эффекта повреждения одной хромосомы при увеличении содержания в ядре ее гомологов, так и усилением с увеличением плоидности способности клеток растений к пострадиационному восстановлению [Изможеров, 1963]. Поэтому для изучения зависимости радиочувствительности клеток от таких простых показателей, как, например, размеры ядер, необходимо подбирать объекты сходной генетической конституции (одинаковой плоидности) и максимально близкие в отношении их анатомического строения и физиологии.

Простые экспоненциальные кривые выживания

Рассмотрим теперь несколько более простых примеров летального действия ионизирующих излучений на клетки, а именно те случаи, когда зависимость числа выживающих клеток от дозы облучения описывается уравнением $S = e^{-\alpha D}$ и в полулогарифмическом масштабе изображается прямой линией. Экстраполяционные числа таких кривых выживания равны единице; это так называемые одноударные кривые доза — эффект. При действии излучений с различной линейной потерей энергии (ЛПЭ), от γ -квантов и жестких рентгеновских лучей до тяжелых ионов, такие кривые выживания характерны для вирусов и бактериофагов, некоторых бактерий и их спор, для гаплоидных дрожжей и некоторых штаммов клеток млекопитающих в культуре.

В простейшем случае, когда реагирующий объект имеет одну мишень весьма малых размеров и одной ионизации в пределах такой мишени достаточно, чтобы вызвать его гибель, размеры этой мишени можно рассчитать, используя значения LD_{37} для редко ионизирующих излучений или относительные величины изоэффективных доз рентгеновских лучей и α -частиц [Ли,

1963]. Наиболее близко к объектам, отвечающим указанным требованиям, подходят, по-видимому, некоторые так называемые мелкие вирусы и бактериофаги, например, фаг ϕ 13, вирус кольцевой пятнистости табака, вирус некроза табака, вирус энцефалита и некоторые другие. Именно у таких мелких вирусов и бактериофагов, согласно расчетам, выполненным Ли (1963), размеры мишеней, найденные по результатам радиобиологических опытов, очень хорошо совпадают с размерами самих вирусных частиц, полученными прямыми методами. Для этих объектов изoeffективные дозы *обратно пропорциональны* их диаметрам. Здесь, следовательно, наблюдается такая же закономерность, что и установленная Сперроу для клеток высших растений: радиочувствительность оказывается прямо пропорциональной размерам критических структур реагирующей единицы, причем если у клеток высших растений такими структурами являются, вероятнее всего, ядра, то у мелких вирусов — сами вирусные частицы, почти целиком состоящие из нуклеопротеидов и практически представляющие собой, по меткому выражению Ли, «голые гены». Ниже мы увидим, что прямая зависимость радиочувствительности клеток от размеров их генетического аппарата наблюдается и у некоторых других объектов, нередко весьма удаленных друг от друга в таксономическом отношении.

К определению параметров критических структур, поражение которых может быть ответственно за инактивацию клеток, можно подойти и другим путем. Мы проиллюстрируем такой подход некоторыми результатами исследований, опубликованных недавно [Tobias, Todd, 1964; Mortimer, et al., 1964].

Согласно принципам попадания и мишени при облучении объектов, для инактивации которых достаточно одной ионизации в пределах одной мишени (или, в случае подразделенной мишени — в пределах одной из ее субъединиц) излучениями со все более возрастающими значениями ЛПЭ, относительная биологическая эффективность (ОБЭ) таких излучений на единицу поглощенной дозы будет вначале оставаться постоянной, а затем начнет уменьшаться (если ионный выход реакций близок к единице). В простейшем случае уменьшение ОБЭ может отражать тот факт, что ЛПЭ применя-

емых излучений достигла такого значения, когда среднее расстояние между соседними актами ионизации, возникающими в биологическом материале при прохождении ионизирующих частиц, стало соизмеримым с размерами мишени (или соответствующих критических структур) облучаемого объекта.

При использовании в качестве излучений с разной ЛПЭ ионизирующих частиц разных энергий, например, ионов дейтерия, гелия, лития, углерода и других, дозу облучения можно выражать не только в количестве энергии, поглощенной в единице объема облучаемого материала, но и в числе частиц, падающих перпендикулярно поверхности соответствующего биологического образца. Если ЛПЭ таких частиц обозначить ϵ , а поглощенную энергию при облучении данной дозой D , то соответствующее число частиц, прошедших через единицу площади облученного материала, будет равно $f = D/\epsilon$. В этом случае уравнение $S = e^{-\alpha D}$ можно за-

писать в виде $S = e^{-\sigma D/\epsilon}$, или $S = e^{-\frac{\sigma}{\epsilon} D}$, где σ — поперечное сечение реакции инактивации для одной ионизирующей частицы, а величина $\frac{\sigma}{\epsilon} = \alpha$ отражает

биологическую эффективность применяемых излучений. Последнее соотношение означает, что в том диапазоне ЛПЭ, когда ОБЭ излучений (при облучении данного объекта, конечно) постоянна, величина σ возрастает прямо пропорционально увеличению ϵ , т. е. прямо пропорционально той энергии, которую оставляет данная ионизирующая частица на единицу длины своего пробега. Именно это и показывает кривая 1 на рис. 48, описывающая зависимость σ от ϵ для лучевой инактивации бактериофага Т1 на интервале значений ϵ примерно от $3 \cdot 10$ до $2,5 \cdot 10^3$ Мэв·см²/г ткани. Однако, как показывает эта же кривая, с дальнейшим увеличением ϵ (т. е. с повышением ЛПЭ применяемых излучений) происходит отклонение зависимости $\sigma(\epsilon)$ от прямой линии — ОБЭ излучений начинает уменьшаться, и σ возрастает медленнее, нежели ϵ , приближаясь к некоторой постоянной величине.

Уменьшение ОБЭ излучений в случае инактивации фага Т1 начинается со значения $2,5 \cdot 10^3$ Мэв/см²/г. В очень грубом приближении это означает следующее.

Если принять, что для возникновения 1 пары ионов в биологическом материале требуется энергия 30—35 эв, то в данном случае на 1 см трека частицы приходится около $7 \cdot 10^8$ — $8 \cdot 10^8$ актов ионизации, т. е. сред-

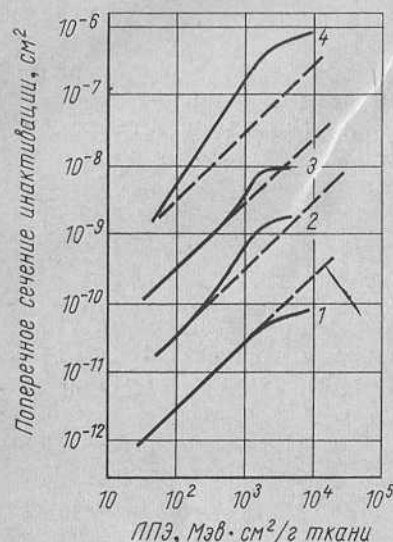


Рис. 48. Зависимость поперечного сечения инактивации от величины линейной передачи энергии (ЛПЭ) для поражения ионизирующими излучениями различных биологических объектов [по: Tobias, Todd, 1964]:

1 — бактериофаги Т1; 2 — сухие споры *Bac. megaterium*; 3 — гаплоидные дрожжи; 4 — клетки почки человека в культуре. Пунктирные прямые соответствуют случаю независимости относительной биологической эффективности излучений от ЛПЭ.

биологических структур, прохождение каждой такой частицы через любой участок той области клетки, где расположены эти структуры, обязательно вызовет регистрируемую реакцию. Именно поэтому максимальное, или предельное, значение $\sigma = \sigma_{\text{макс}}$ можно считать соизмеримым с площадью проекции реальных критических структур облучаемой биологической единицы на плоскость, перпендикулярную направлению потока ионизи-

рующего излучения. Если принять, что для возникновения 1 пары ионов в биологическом материале требуется энергия 30—35 эв, то в данном случае на 1 см трека частицы приходится около $7 \cdot 10^8$ — $8 \cdot 10^8$ актов ионизации, т. е. среднее расстояние между соседними ионизациями измеряется величиной порядка 10 Å. Согласно допущению, сделанному выше, это — величина, соизмеримая с размерами критических структур облучаемой биологической единицы. Интересно, что найденная величина соизмерима с поперечным сечением 1 нити молекулы ДНК, а также с расстоянием между двумя цепями ДНК в одной молекуле.

С другой стороны, то обстоятельство, что значение σ при продолжающемся увеличении ϵ стремится к некоторому пределу, может означать, что при достаточно высоких значениях ЛПЭ, когда среднее расстояние между соседними ионизациями, возникающими при прохождении частицы, соизмеримо с размерами критических

рующих частиц. В случае примера с облучением фага T1 $\sigma_{\text{макс}} = 9 \cdot 10^{-11} \text{ см}^2$. Эта величина хорошо соответствует размерам головки этого фага, содержащей ДНК, т. е. размеру фагового «ядра» [Tobias, Todd, 1964].

На рис. 48, помимо кривой 1 зависимости $\sigma(\epsilon)$ для фага T1 приведены такие же кривые для спор бактерий *Bacillus megaterium*, гаплоидных дрожжей и клеток почек человека в культуре (кривые 2—4). Все эти объекты на использованном интервале ЛПЭ излучений обнаруживают экспоненциальную зависимость выживания от дозы, что позволяет сравнивать результаты, полученные на этих объектах, как между собой, так и с результатами для бактериофагов.

Кривые зависимости $\sigma(\epsilon)$ для бактериальных спор, гаплоидных дрожжей и клеток человека в культуре имеют следующие сходства с кривой $\sigma(\epsilon)$ для фага T1. Во-первых, во всех этих случаях уменьшение ОБЭ при применяемых излучениях наступает примерно при одних и тех же значениях $\sigma_{\text{крит}}$, соответствующих ЛПЭ около $1,5 \cdot 10^3$ — $2,5 \cdot 10^3 \text{ Мэв} \cdot \text{см}^2/\text{г}$. Во-вторых, все эти кривые $\sigma(\epsilon)$ при возрастании ϵ стремятся к некоторым предельным значениям $\sigma_{\text{макс}}$. Первое обстоятельство может означать, что параметры критических структур, ионизация которых вызывает инактивацию, для всех этих объектов примерно одинаковы и, как мы уже отметили, соизмеримы с поперечным сечением молекулы ДНК. Максимальное значение σ , как мы также уже упоминали, может отражать размеры поперечного сечения области клетки, занятой чувствительным к облучению материалом. В этом отношении очень интересным представляется тот факт, что значения $\sigma_{\text{макс}}$ для бактериальных спор, гаплоидных дрожжей и клеток человека, равные примерно 10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-6} см^2 , хорошо согласуются с размерами генетического аппарата этих объектов [Tobias, Todd, 1964]. Напомним, что примерно на два порядка различаются между собой и средние значения D_0 при действии на клетки млекопитающих и дрожжи редкоиницирующих излучений (табл. 15). Здесь, следовательно, опять подтверждается закономерность связи радиочувствительности клеток (имеющих сходное число хромосомных наборов и характеризующихся одинаковыми по форме кривыми доза — эффект) с размерами их ядерных структур.

Однако кривые зависимости σ от ϵ для бактериальных спор, гаплоидных дрожжей и клеток почки человека в культуре отличаются от соответствующей кривой для фага T1 в одном существенном отношении. Если при облучении фага излучениями с разной ЛПЭ, начиная от рентгеновских лучей в 21 кэв и кончая ядрами аргона, ОБЭ этих излучений никогда не превышает ОБЭ рентгеновских лучей (см. рис. 48, кривая 1), то в случае трех других объектов ОБЭ излучений с увеличением ЛПЭ вначале становится *больше* ОБЭ рентгеновских лучей и лишь потом начинает убывать; это выражается в том, что кривые $\sigma(\epsilon)$ при некоторых средних значениях ϵ для всех этих объектов отклоняются вверх от прямых, соответствующих зависимости σ от ϵ при постоянной ОБЭ (рис. 48, кривые 2—4). Это обстоятельство может означать, что для лучевой инактивации таких объектов одна ионизация в соответствующей чувствительной структуре менее эффективна, чем несколько актов ионизации, одновременно осуществляющихся при пересечении этой структуры ионизирующей частицей. Действительно, как мы уже упоминали в гл. 2, если у данного биологического объекта ионный выход мутации или инактивации клетки меньше единицы, то биологическая эффективность ионизирующих частиц с некоторыми средними значениями ЛПЭ, например, нейтронов или α -частиц, должна быть выше, нежели γ -квантов или жестких рентгеновских излучений.

Итак, рассмотрение количественных закономерностей лучевой инактивации некоторых биологических объектов, для которых характерна одноударная форма кривых выживания, привело нас к такому же заключению, что и при рассмотрении более сложных ситуаций: основная причина летального действия ионизирующих излучений на клетки представляет собой, вероятнее всего, повреждение вследствие одной или нескольких ионизаций их генетического аппарата. Однако, как и в предыдущих случаях, отнюдь не просто решить, чем же являются такие генетические повреждения — генными мутациями или локальными хромосомными повреждениями, приводящими к потере генетического материала, или другими нарушениями, препятствующими нормальному осуществлению клеточного деления. И ес-

ли в отношении вирусов и фагов в настоящее время общепринято связывать летальный эффект облучения с возникновением точковых мутаций, то уже в случае гаплоидных дрожжей вопрос этот пока что не поддается однозначному решению.

У гаплоидных дрожжей реакции на облучение похожи на реакции вирусов в том отношении, что у этих объектов при всех испытанных до сих пор условиях

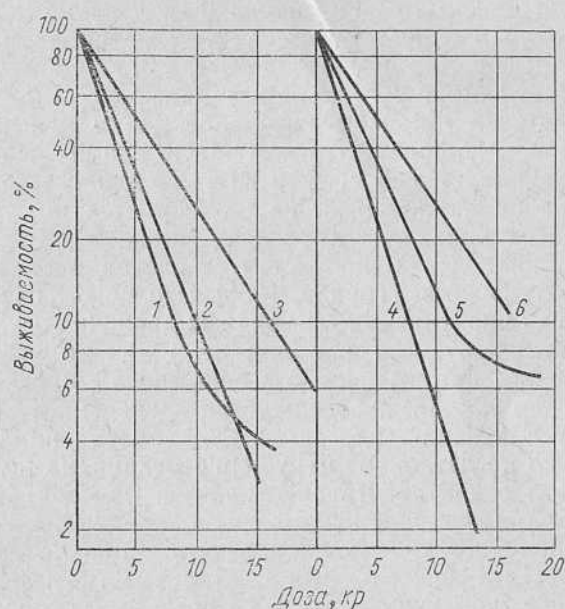


Рис. 49. Выживаемость гаплоидных дрожжей разных штаммов при облучении γ -квантами [по: Короткий, 1966]. *Saccharomyces cerevisiae* разные штаммы:

1 — P2-1A; 3 — P2-1Г; 4 — 59R⁶²⁴ 59RA⁶²⁴; 5 — 02587; 6 — 1270-12d; 2 — *Zygosaccharomyces Bailii*.

экспериментов наблюдается только одноударная форма зависимости эффекта от дозы. На рис. 49 приведены кривые выживания дрожжей нескольких гаплоидных штаммов; отклонения от простой экспоненциальной формы у кривых 1 и 5 при дозах выше 10 кр объясняются присутствием в суспензиях около 10% почкующихся клеток, которые отличаются, как извест-

но, повышенной радиорезистентностью. До сих пор не описано ни одного способа получения у покоящихся (не почкующихся) гаплоидных дрожжевых клеток S-образной кривой выживания. Условия пострadiационного культивирования также, по-видимому, мало влияют на выживание облученных гаплоидных дрожжей, а способность к пострadiационному восстановлению у них практически полностью отсутствует, то ли вследствие необратимости первичных лучевых повреждений, то ли в силу особенностей их метаболизма [Корогодин, 1966]. Характерно также, что соотношение форм инактивации у гаплоидных дрожжей сохраняется постоянным на широком интервале доз с явным преобладанием M2-формы (гибели после одного деления). У выживающих после облучения гаплоидных дрожжей, в отличие от диплоидных, не наблюдается ни торможения роста колоний [Корогодин, Лю Ай-шень, 1958], ни повышенной радиочувствительности образующих эти колонии клеток [Тобиас, 1955]. Это может означать, что лучевая инактивация гаплоидных дрожжей осуществляется по закону «все или ничего»: у них не возникает повреждений, которые, не вызывая гибели клетки, тем не менее влияли бы на ее чувствительность к последующему облучению или вызывали более или менее стойкое, но не летальное нарушение механизма деления.

Вся эта совокупность особенностей лучевой инактивации гаплоидных дрожжей хорошо объясняется предположением, что гибель их вследствие облучения обусловливается рецессивными летальными мутациями или, точнее, повреждениями, которые у диплоидных клеток ведут себя как рецессивные летали. Прямые доказательства возникновения у дрожжей таких повреждений при облучении гаплоидных и диплоидных клеток приведены в работе Тобиаса и др. [Tobias et al., 1958]. Мортимер с соавторами [Mortimer et al., 1964] попытался оценить число локусов в гаплоидном наборе дрожжей, способных к такого рода изменениям. На основании радиационно-генетических экспериментов с диплоидными клетками, у которых учитывалась зависимость частоты мутирования нескольких генов от дозы ионизирующих частиц с разными значениями ЛПЭ, показано, что максимальное поперечное сечение реакции мутации одного гена $\sigma_{\text{макс}} = 10^{-14} \text{ см}^2$, т. е. что

соответствующая мишень имеет размеры порядка 10 Å (опять величина, соизмеримая с поперечным сечением молекулы ДНК!). Учитывая, далее, что для инактивации гаплоидных дрожжей $\sigma_{\text{макс}} = 10^{-8} \text{ см}^2$ (см. рис. 48, кривая 3), т. е. примерно в 10^6 раз больше поперечного сечения реакции индукции специфической мутации, Мортимер и др. высказывали предположение, что в случае, если инактивация таких клеток действительно представляет собой результат точковых мутаций, это может означать, что в их геноме имеется около 10^6 основных триплетов, в которых такие мутации могут осуществляться. Эти расчеты, конечно, следует расценивать лишь как весьма приближенные, ибо, с одной стороны, не исключено, что частота мутирования разных локусов у гаплоидных и диплоидных дрожжей может быть различной [Арман, 1966], а с другой стороны, относительный удельный вес генных мутаций в лучевой инактивации гаплоидных клеток не поддается прямой экспериментальной оценке.

Для бактерий в ранних исследованиях также установлена простая экспоненциальная зависимость реакции инактивации от дозы (см. гл. 1), и неоднократно высказывалось мнение о мутационной природе этой реакции [Ли, 1963]. Однако в случае этих объектов вопрос о причинах, обуславливающих форму кривой выживания, обстоит еще сложнее, чем в случае гаплоидных дрожжевых клеток. Действительно, в последние годы было показано, что кривые выживания наиболее изученных в этом отношении бактерий *E. coli* отнюдь не всегда являются одноударными, но могут иметь самую разную форму и варьировать в зависимости от различных факторов от простой экспоненциальной до весьма изогнутой S-образной и даже вогнутой (при изображении в полулогарифмическом масштабе). Это, конечно, еще не означает, что данным объектам не присущ одноударный механизм инактивации, а может свидетельствовать о гетерогенности клеточной популяции, подвергаемой облучению, и о сильном влиянии на проявление у этих объектов летального эффекта облучения условий культивирования, в частности, посредством их воздействия на механизмы пострadiaционного восстановления [Вальдштейн и Жестянников, 1966]. Однако до тех пор, пока природа и количественные за-

кономерности таких влияний не будут тщательно изучены, анализ первичных механизмов лучевой инактивации подобных объектов путем изучения одних только форм кривых доза — эффект вряд ли будет перспективным. В общей форме эти соображения приложимы и к вопросу о природе элементарных событий лучевой инактивации клеток млекопитающих в культуре.

Интерфазная гибель клеток

В качестве последнего примера летального действия ионизирующих излучений на клеточном уровне рассмотрим вкратце феномен так называемой «интерфазной гибели». Этот тип биологического воздействия ионизирующих излучений был известен давно, но начали систематически изучать его лишь в последнее время. Интерфазная гибель клеток характерна для многих активно пролиферирующих и дифференцирующихся тканей млекопитающих (сперматогонии, дифференцирующиеся нервные клетки, лимфоциты селезенки и тимуса, бласт-формы костного мозга и др.) и проявляется в виде пикнотической дегенерации ядер вскоре после облучения до вступления облученных клеток в первый пострadiaционный митоз [Граевский, Шапиро, 1958; Корогодина, 1965, 1966; Корогодина, Дубровина, 1966].

В литературе очень мало данных относительно зависимости числа не погибающих в интерфазе клеток от дозы облучения. На рис. 50 приведены кривые доза — эффект для интерфазной гибели клеток наружного зернистого слоя коры мозжечка пятисуточных крысят [Корогодина, 1966] и сперматогоний мышей [Oakberg, 1965]. Эти кривые показывают, что популяции клеток обоих типов гетерогенны по радиочувствительности в отношении интерфазной гибели. Кривые выживания для радиочувствительных клеток обеих популяций имеют форму, близкую к простой экспоненциальной, что может свидетельствовать об одноударном механизме возникновения повреждений, вызывающих данный эффект. То обстоятельство, что при облучении коры мозжечка крысят [Корогодина и Дубровина, 1966] кинетика накопления во времени погибающих в интерфазе клеток в интервале от 220 до 1200 *p* очень мало зависит от дозы (рис. 51),

как будто подтверждает это мнение. Создается впечатление, что интерфазная гибель клеток происходит по закону «все или ничего» и может быть обусловлена одним попаданием в соответствующий эффективный объем; действительно, как мы видели выше на примерах задержки клеточного деления и гемолиза эритроцитов, в случаях кумулятивного действия излучений положение кривых время — эффект относительно оси абсцисс весьма существенно зависит от дозы облучения. Далее, на рис. 50, б показано, что нейтроны в отношении ранней

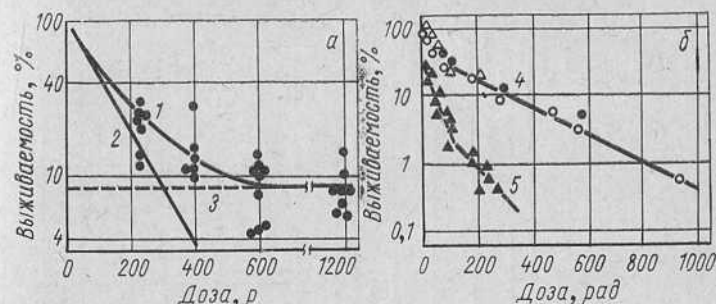


Рис. 50. Выживаемость клеток животных, погибающих после облучения в интерфазе:

а — клетки наружного зернистого слоя коры мозжечка пятисуточных крысят; γ -облучение [по: Корогодина, Дубровина, 1966]; б — сперматогонии типа А мышей [Oakberg, 1965]; 1 — экспериментальная кривая доза-эффект; 2 — кривая выживания для радиочувствительного компонента клеточной популяции; 3 — уровень содержания в популяции радиорезистентных (в отношении интерфазной гибели) клеток; 4 — кривая выживания при действии γ -квантов ($\circ$), рентгеновских лучей ($\bullet$) и протонов энергии 730 Мэв (Δ); 5 — кривая выживания при действии нейтронов ($\blacktriangle$).

пострадиационной пикнотической дегенерации сперматогоний в несколько раз эффективнее рентгеновских лучей и γ -квантов, а также быстрых протонов; это может означать, что событием попадания в данном случае служит более чем одна ионизация. Наконец, высокая радиочувствительность клеток в отношении этого типа лучевого поражения может свидетельствовать о весьма больших размерах соответствующих эффективных объемов.

Некоторые данные, имеющиеся в литературе, позволяют предположить, что чувствительность клеток в отношении интерфазной гибели не коррелирует с их радиочувствительностью в отношении возникновения хромосомных aberrаций [Граевский и Шапиро, 1958; Ко-

рогодина, 1965]. Это может означать, что гибель клеток до вступления в митоз обусловлена повреждениями иного рода, нежели те, которые приводят к появлению в клетках различного рода морфологически различных хромосомных аномалий. Есть основания предполагать, что такая форма лучевой инактивации характерна главным образом для клеток, готовящихся к активным формообразовательным процессам, т. е. вступивших на путь дифференцировки [Корогодина, 1966; Корогодина и Дубровина, 1966]. Весьма вероятно, что у клеток, находящихся в этой фазе развития, функцио-

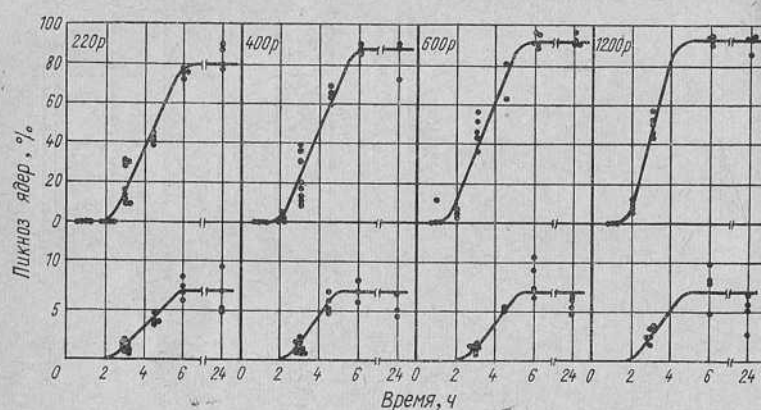


Рис. 51. Кинетика накопления погибающих в интерфазе клеток в коре мозжечка пятисуточных крысят после облучения разными дозами γ -квантов [Корогодина, Дубровина, 1966]. Верхний ряд — клетки наружного зернистого слоя коры, нижний ряд — клетки внутреннего зернистого слоя.

нальное состояние ядер таково, что даже ограниченное число актов ионизации в пределах самого ядра или в его ближайшем окружении оказывается достаточно, чтобы вызвать пикноз и дегенерацию всего ядерного аппарата.

4. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Итак, мы рассмотрели серию избранных примеров летального действия ионизирующих излучений на клетки и постарались показать возможности приложения к некоторым из них принципов попадания и мишени для анализа соответствующих количественных закономерностей. Мы видели, что подобный анализ кривых до-

за — эффект и время — эффект иногда позволяет довольно однозначно решить вопрос, связан ли данный вид биологического действия ионизирующих излучений с локальным или генерализованным (кумулятивным) повреждением клетки, а также позволяет приблизиться к решению вопроса о том, достаточно ли для вызывания гибели тех или иных клеток одного или нескольких попаданий. Однако в отличие от более простых (генетических) эффектов облучения (возникновения определенных типов генных или хромосомных мутаций) лучевая инактивация клеток может быть обусловлена повреждением вследствие попадания весьма различных элементарных биологических структур, как ядерных, так и, по-видимому, цитоплазматических. Это выражается морфологически в виде многообразия форм инактивации облученных клеток, которые могут погибать после разного числа циклов деления или без вступления в митоз. Соотношение разных форм инактивации, а также формы кривых выживания (их изогнутость и крутизна, отражаемые параметрами n и D_0) могут зависеть от степени ploидности клеток, их функционального состояния и условий культивирования до и после облучения, от фазы клеточного цикла во время лучевого воздействия и ЛПЭ применяемых излучений. Всё это, конечно, существенно усложняет решение вопроса о числе, размерах и природе тех внутриклеточных структур, повреждение которых вследствие ионизации может быть ответственно за лучевую инактивацию разных клеток. Однако как раз такие осложняющие обстоятельства позволяют надеяться на принципиальную возможность решения этих вопросов, в то время как «неизменные» простые кривые доза — эффект, как уже указывалось в первых главах, позволяют решить, хотя и однозначно, лишь вопрос о характере первичного физического пускового механизма соответствующих биологических реакций.

При попытках решения этих вопросов необходимо всегда строго придерживаться основного правила: анализ количественных закономерностей летального действия ионизирующих излучений проводить с возможно более полным учетом всех генетических, физиологических и иных особенностей того объекта, который избран для проведения соответствующих эксперимен-

тов. Именно такой подход позволил в некоторых случаях с большой долей достоверности связать относительную роль в лучевой инактивации клеток генных и хромосомных нарушений, или ядерных и цитоплазматических повреждений, со структурой генетического аппарата клеток (числом хромосомных наборов). Сопоставление значений изоэффективных доз с размерами ядер (или содержанием ДНК) у клеток, близких по плоидности, позволило предположить, что структурные элементы, повреждение которых ответственно за лучевую инактивацию клеток, в большинстве случаев локализованы в клеточном ядре и что радиочувствительность таких клеток в общем случае пропорциональна размерам их ядер. Изучение закономерностей лучевой инактивации клеток при использовании излучений с разными значениями ЛПЭ позволило для некоторых объектов рассчитать размеры поперечного сечения ответственных за проявление этой реакции на облучение клеточных компонентов, и они оказались *равными* размерам клеточных ядер. Всё это позволяет заключить, что в подавляющем большинстве случаев гибель или инактивация облученных клеток происходит в результате некоторых первичных событий, осуществляющихся при возникновении в клеточном ядре одного или нескольких актов ионизации. К сожалению, для более детальных конкретизаций пусковых механизмов летального действия ионизирующих излучений на клетки и, в частности, для более продуктивного использования при изучении этого эффекта облучения принципов попадания и мишени радиобиология все еще не располагает достаточным количеством твердо установленных и однозначно интерпретируемых фактов, а также достаточным знанием строения и функций ряда элементарных внутриклеточных структур.

КОМПЛЕКСНЫЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ
РЕАКЦИИ1. ИЗБРАННЫЕ ПРИМЕРЫ КОМПЛЕКСНЫХ
РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

В этой последней главе мы рассмотрим более сложные случаи радиобиологических реакций: гибель или серьезные поражения в результате облучения многоклеточных объектов. Мы начнем это рассмотрение с тех случаев, когда облучаются группы более или менее одинаковых клеток, таких, как клеточные колонии (в культурах *in vitro* или *in vivo*), и способные к полной регенерации части органов эмбрионов животных или многоклеточных растений. Достаточно точно и количественно исследованных примеров такого рода пока, к сожалению, немного.

В радиобиологических опытах с клетками облучению подвергают обычно отдельные изолированные клетки в суспензии или на твердой питательной среде и эффект регистрируют по числу колоний, выросших из клеток, сохранивших способность к размножению. В этих случаях кривые выживания характеризуются, как правило, весьма невысокими значениями экстраполяционных чисел и определенным наклоном, отражающим радиочувствительность объекта. Низкие значения экстраполяционных чисел могут свидетельствовать о близкой связи между регистрируемым конечным эффектом и первичными физическими пусковыми механизмами, срабатывающими по принципу попадания. Из этого следует, в свою очередь, что гибель или инактивация клеток наступает в основном (как неоднократно указывалось в предыдущих главах), в результате поражения уникальных или представленных малым числом жизненно важных внутриклеточных структур, в чем проявляется принцип мишени. Величина же наклона кривых, выражающая радиочувствительность объекта, связана с величиной эффективного объема, который может быть положительно коррелирован (как было показано на нескольких примерах в предыдущей

главе) с размерами реагирующей единицы или мишени (в данном случае — с количеством ДНК в ядрах). Именно такую простую форму имеет кривая 1 на рис. 52, описывающая зависимость от дозы доли ство-

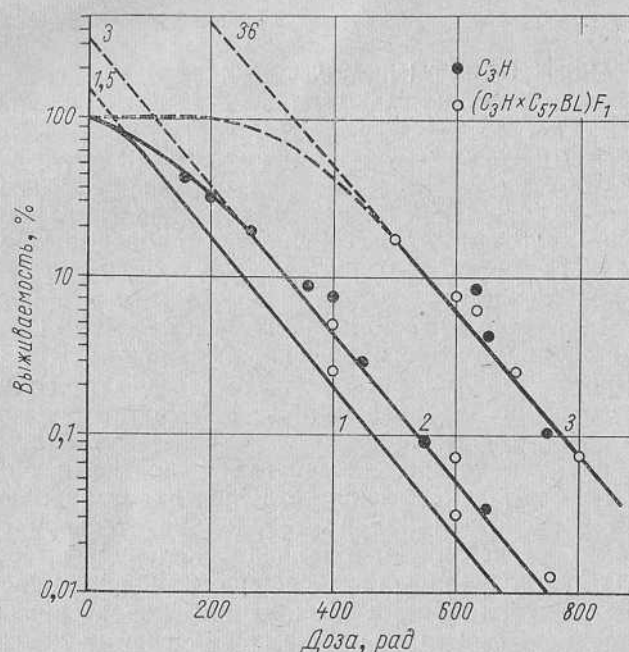


Рис. 52. Кривые выживания стволовых клеток костного мозга мышей (CFU) при облучении их *in vivo*: через 2 ч (1), 50 ч (2) и 120 ч (3) после введения животным-реципиентам [McCulloch, Till, 1964].

Кривая 1 приведена без экспериментальных точек; светлые и черные значки у кривых 2 и 3 соответствуют данным, полученным на животных разных линий.

ловых клеток костного мозга (CFU), способных образовывать колонии в селезенках облученных мышей-реципиентов [McCulloch, Till, 1964]. Как было показано в трех предыдущих главах, эта в принципе простая ситуация может осложняться некоторыми модифицирующими воздействиями сопутствующих факторов и эффектом пострadiaционного восстановления.

Если облучать не отдельные клетки, а колонии или группы, состоящие из большого числа однородных кле-

ток, то в том случае, если радиочувствительность таких клеток не зависит от их числа в колонии, «кривые выживания» этих колоний должны сохранять наклон, типичный для кривых выживания одиночных клеток, а экстраполяционные числа должны возрастать пропорционально среднему числу клеток в исходных облучаемых группах. Именно такая ситуация показана на рис. 52.

В опытах, результаты которых здесь изображены, костномозговые CFU вводили животным-реципиентам и облучали *in vivo* через разные сроки после инъекции. Кривая 1 соответствует облучению через 2 ч (экстраполяционное число $n=1,5$), кривая 2 — облучению через 50 ч ($n=3$), а кривая 3 — через 120 ч ($n=36$). В первом случае ко времени облучения клетки еще не успевали поделиться, а во втором и третьем осуществляли соответственно 1 деление и 4 или 5 делений, и облучению, следовательно, подвергались микроколонии, состоящие из 2 и 16—32 клеток.

Из этого же примера видно, что в данном случае, действительно, радиочувствительность клеток не зависит от размера группы, в которую они входят, — наклоны всех трех кривых одинаковы, а $D_0=95 \text{ рад}$.

Аналогичные ситуации можно наблюдать при облучении органов, особенно у растений, состоящих из однотипных по своим биологическим свойствам клеток. Например, при облучении корешков проростков даже относительно большими дозами ионизирующих излучений, несмотря на гибель большинства клеток, наблюдается регенерация корешка из оставшихся жизнеспособными клеток меристемы. К сожалению, в таких опытах не строились точные дозовые кривые для выживания корешков, из-за чего не представляется возможным сравнить экстраполяционные числа этих кривых с количеством погибших и выживших клеток меристемы.

Ситуация значительно усложняется в тех случаях, когда клетки, составляющие облучаемый объект, биологически неоднородны, отличаются друг от друга радиочувствительностью и, особенно, по своему значению для жизнеспособности всей группы в целом. Это наблюдается, например, при облучении растений и животных в различных эмбриональных стадиях.

Примером подобного рода действия излучений могут служить опыты по облучению эмбрионов дрозофилы [Hussey et al., 1927; Packard, 1932; Langendorf, Sommermayer, 1940; Fritz-Niggli, 1955]. В таких опытах облучают оплодотворенные и отложенные яйца разного возраста, т.е. эмбрионы на разных стадиях развития, и учитывают количество невылупившихся личинок. Несколько соответствующих кривых доза — эффект приведено на рис. 53—55. Такие кривые S-образны, с относительно высокими «числами попаданий», в соответствии с многосклеточностью облучаемых объектов. (Исключение составляет не приведенная на рисунках и требующая специального объяснения одноударная кривая доза — эффект для лучевой гибели четырехчасовых эмбрионов.) Очень характерна большая разница в радиочувствительности разных стадий эмбриогенеза (рис. 56). Эта радиочувствительность не обнаруживает простой зависимости от возраста (т.е. монотонное возрастание или убывание с возрастом), а меняется от стадии к стадии в разных направлениях. Это связано, по-видимому, со сменяющимися друг друга фазами специфической дифференцировки в эмбриогенезе органов и тканей зародыша.

В упоминавшихся в предыдущей главе работах по интерфазной гибели дифференцирующихся постэмбрионально мозжечковых клетках новорожденных крысят, а также в изучавшейся в той же серии работ гибели клеток зародышевых дисков куриных яиц [Корогодина, 1965] наблюдалось весьма интересное явление ясной зависимости радиочувствительности клеток, особенно в отношении интерфазной гибели, от стадии тканевой дифференцировки. Принципиальные результаты этих опытов приведены на рис. 57, где показано, что после облучения *in ovo* куриных бластодисков двухчасовой инкубации интерфазная гибель клеток наблюдается лишь в центральной зоне, где в последующем формируется тело зародыша, и совершенно отсутствует в периферической зоне; митотический индекс клеток до и после облучения в обеих зонах практически одинаков.

В этих опытах на относительно простой системе ясно выявляется значение, в отношении радиочувствительности, определенных фаз клеточно-тканевой дифференцировки. Это, несомненно, и лежит в основе об-

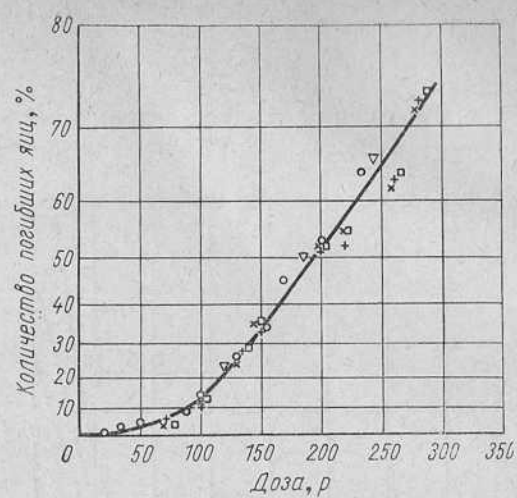


Рис. 53. Гибель трехчасовых яиц *D. melanogaster* [Packard, 1932] под воздействием рентгеновских лучей различной длины волны, Å: 1,60: × ○ + — 0,70; + — 0,50; □ — 0,20; ▽ — 0,05.

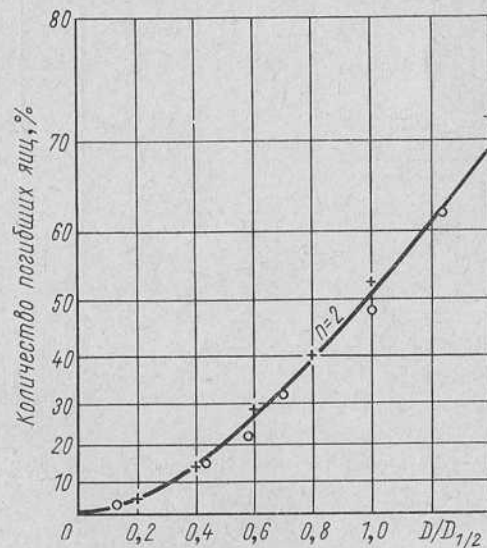


Рис. 54. Гибель трехчасовых яиц *D. melanogaster* под воздействием рентгеновских лучей 0,16 (○) и 2,0 (+) Å [Langendorff, Sommermeyer, 1940].

щеизвестных (приведенных выше на примере дрозофилы, см. рис. 56) смен радиочувствительности в разных направлениях по мере смены стадий эмбрионального

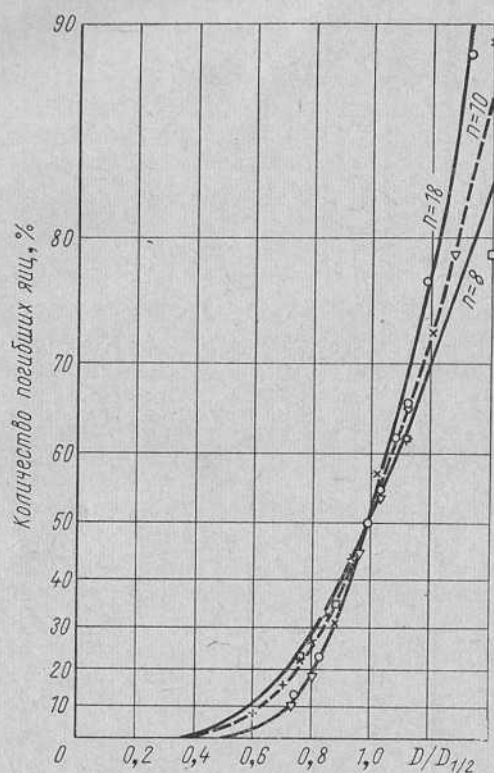


Рис. 55. Гибель шестичасовых яиц *D. melanogaster* [Langendorff, Sommermeyer, 1940] под воздействием рентгеновских лучей раз-

личной длины волны, Å:
 ○—0,16; ▽—0,51; ×—0,95; □—1,25; +—2,0—.

развития. Изменения радиочувствительности в эмбриогенезе сопровождаются обычно и соответствующими изменениями превалирующих повреждений определенных тканей и органов, что было показано на различных объектах. Это, в свою очередь, выражается в разных формах эмбриональной гибели и в различных

типах радиоморфозов, приуроченных к определенным стадиям эмбриогенеза облучаемых объектов, что было показано Фриц-Ниггли [Fritz-Niggli, 1955] на дрозофиле и Рассел [Russel, 1950] на мышах.

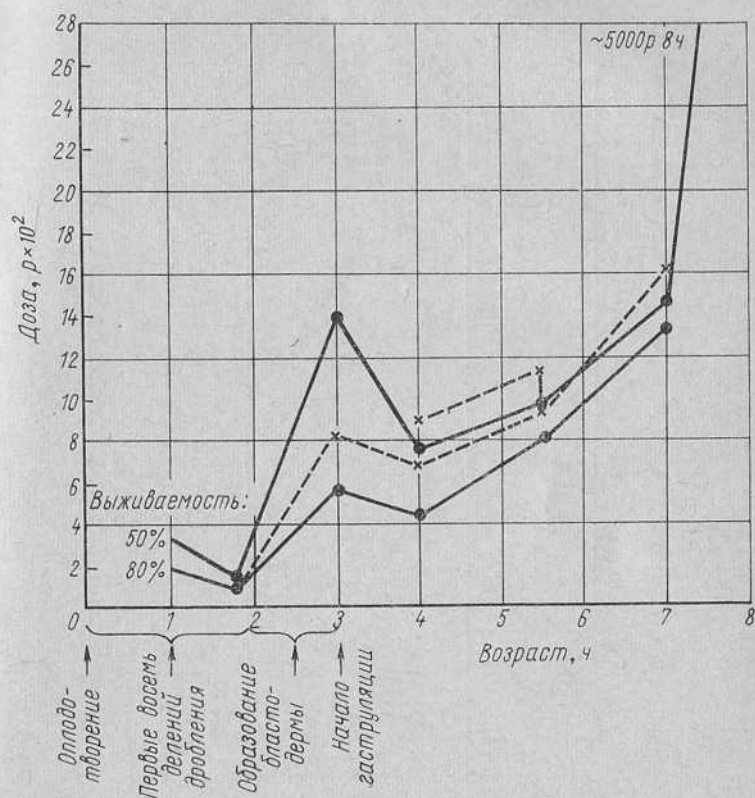


Рис. 56. Зависимость радиочувствительности эмбрионов дрозофилы от возраста [Fritz-Niggli, 1955]:
 — фотоны 180 кэв; — — — 31 Мэв.

У растений, в принципе, должна быть подобная, но более простая ситуация. Зародыши покоящихся семян высших растений представляют собой многоклеточные образования, в различной степени (у разных видов) дифференцированные и различающиеся по числу омнипотентных меристематических клеток. Как известно, по-

кующиеся семена различных видов резко различаются по своей радиочувствительности, так что летальные дозы, например, варьируют от примерно десяти тысяч

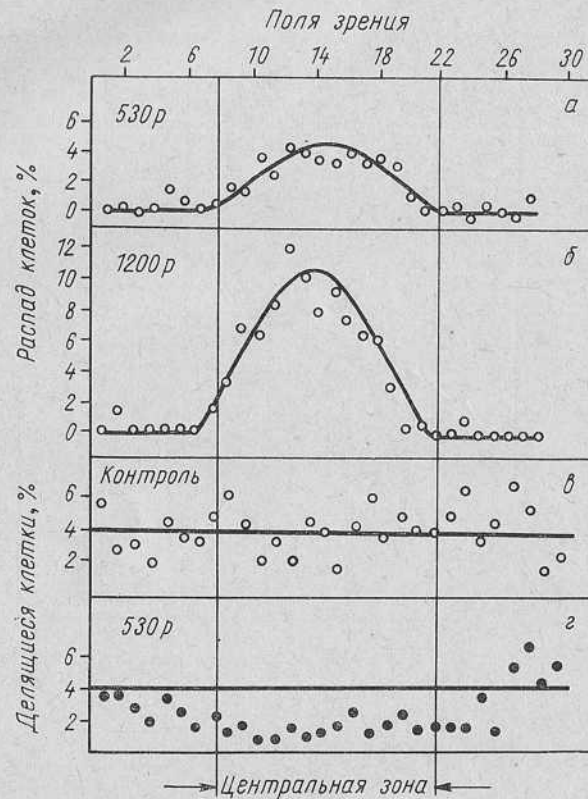


Рис. 57. Распределение радиочувствительности клеток по разным полям зрения произвольно выбранного диаметра двухчасовой куриной бластодермы [по: Корогодина, 1965]:

а и *б* — степень выраженности интерфазной гибели клеток в разных зонах бластодиска после облучения дозами 530 и 1200 p; *в* — распределение делящихся клеток в разных зонах двухчасового необлученного бластодиска; *г* — то же, через 4 ч после облучения дозой в 1200 p; горизонтальной прямой показан уровень митотического индекса в контроле.

рентген для радиочувствительных видов до сотен тысяч рентген для радиоустойчивых (табл. 16). Было предпринято много различных попыток связать радиочув-

Таблица 16
Радиочувствительность семян различных растений [Преображенская, Тимофеев-Ресовский, 1962].

Семейство	Вид	Класс радиочувствительности	Семейство	Вид	Класс радиочувствительности
Pinaceae	<i>Picea excelsa</i>	1	Papilionaceae	<i>Lupinus angustifolius</i>	2
Gramineae	<i>Pinus silvestris</i>	1		<i>Medicago sativa</i>	3
	<i>Zea mays</i>	1		<i>Melilotus officinalis</i>	3
	<i>Panicum mileaceum</i>	2		<i>Trifolium pratense</i>	3
	<i>Phalaris sp.</i>	1		<i>Lotus corniculatus</i>	3
	<i>Phleum pratense</i>	1		<i>Ornithopus sativus</i>	3
	<i>Alopecurus pratensis</i>	1		<i>Onobrychis arenaria</i>	3
	<i>Avena sativa</i>	2		<i>Arachis hypogaea</i>	2
	<i>Arrhenatherum elatius</i>	1		<i>Cicer arietinum</i>	2
	<i>Dactylis glomerata</i>	2		<i>Vicia sativa</i>	2
	<i>Festuca rubra</i>	1		<i>V. faba</i>	1
	<i>Bromus enermis</i>	1		<i>Lens esculenta</i>	2
	<i>Agropyrum repens</i>	1		<i>Lathyrus sativus</i>	2
	<i>Secale cereale</i>	1		<i>Pisum sativum</i>	1—2
	<i>Triticum vulgare</i>	1		<i>Glycine hispida</i>	2
	<i>Hordeum vulgare</i>	2		<i>Phaseolus vulgaris</i>	1
Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	2	Linaceae	<i>Linum usitatissimum</i>	3

^{1/4} 6 Н. В. Тимофеев-Ресовский и др.

Продолжение табл. 16

Семейство	Вид	Класс радиочувствительности	Семейство	Вид	Класс радиочувствительности
Moraceae	Cannabis sativa	2	Euphorbiaceae	Ricinus pericus	3
Polygonaceae	Fagopyrum sagittatum	2	Malvaceae	Hibiscus cannabinus	3
Chenopodiaceae	Beta vulgaris	2		Abutilon avicennae	3
	Spinacea oleracea	2	Umbeliferae	Coriandrum sativum	2
Papaveraceae	Papaver sp.	2		Petroselinum sativum	2
Cruciferae	Brassica oleracea	3		Pimpinella anisum	2
	B. napus var. rapifera	3		Anethum graveolens	2
	B. napus var. oleifera	3		Daucus carota	3
	B. campestris var. rapa	3	Labiatae	Lallemantia iberica	3
	B. campestris var. oleifera	3		Perilla ocymoides	1
	Sinapis alba	3	Solanaseae	Lycopersicum esculentum	2
	Rhaphanus sativus	3		Nicotiana rustica	3
	Rh. sativus var. radicola	3	Pedaliaceae	Sesamum indicum	3
	Camelina sativa	3	Cucurbitaceae	Cucumis sativus	3
			Compositae	Helianthus annuus	2
				Lactuca sativa	2

Примечание. Цифры соответствуют летальным дозам: 1—от 15 до 25 кр; 2—от 50 до 100 кр и 3—от 200 до 300 кр.

ствительность семян различных видов растений с различными морфо-физиологическими и биохимическими их особенностями. Однако подобные классификации содержат, как правило, больше исключений, чем соответствий. Одной из наиболее удачных является классификация, предложенная Сперроу [Sparrow, 1965]. Он показал (правда, в основном на растущих растениях, а не на семенах), что в пределах определенных групп высших растений наблюдается тесная корреляция радиочувствительности с размерами и особенностями строения ядерного аппарата. В то же время Г. И. Преображенская и Н. В. Тимофеев-Ресовский (1962) установили, что различные филогенетические группы достаточно резко отличаются по своей «средней» радиочувствительности. Наблюдаемая хорошая корреляция радиочувствительности растений с размерами ядер и строением хромосомного аппарата является, вероятно, отражением более или менее прямой зависимости у растений общей радиочувствительности от поражения генетической системы их клеток. Что же касается различий в средней радиочувствительности между филогенетически различными группами растений (см. табл. 16), то, возможно, что они связаны с различными в этих группах типами и степенью завершенности эмбриогенеза в стадии зрелых семян. К сожалению, для решения этого вопроса до сих пор недостаточно изучена сравнительная эмбриология семян высших растений.

Следует отметить, что сказанное выше об относительной простоте радиобиологических реакций растительных объектов справедливо только при сравнении растений с более сложно организованными животными, особенно высшими. В действительности же и радиобиологические реакции растений оказываются часто комплексными. Проиллюстрируем это следующим примером [Иванов и др. 1967]. У *Arabidopsis thaliana* (L.) Neunh после облучения покоящихся семян γ -квантами в различных дозах регистрировалось выживание растений до плодоношения с сохранением плодovitости. При этом учитывались гибель на всех основных последовательных фазах развития (прорастание, фаза семядольных листьев, фаза розетки, фаза формирования соцветия, цветение), а также стерильность растений, выживших до плодоношения. Полученные кривые вы-

живания изображены на рис. 58, из которого видно следующее. Во-первых, выживание в отдельных фазах развития по-разному зависит от дозы, что выражается в различной степени изогнутости и крутизне наклона дозовых кривых; возможно, что эти различия связаны

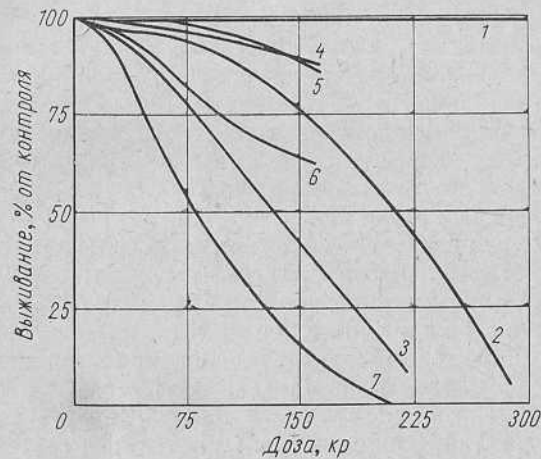


Рис. 58. Кривые выживания и плодовитости растений *Arabidopsis thaliana*, выращенных из семян, облученных в покоем состоянии различными дозами γ -квантов Co^{60} [Иванов и др., 1967].

1 — прорастание; 2 — фаза семядольных листьев; 3 — фаза розетки; 4 — фаза формирования соцветия; 5 — фаза цветения; 6 — количество (%) плодовых растений среди выживших; 7 — количество (%) плодовых растений из числа посеянных семян.

с повреждениями разного числа в различной степени дифференцированных примордиальных клеток, ответственных за соответствующий этап развития. Во-вторых, сравнительно простая кривая выживания растений до плодоношения с сохранением плодовитости отражает не одну определенную реакцию, а сумму нескольких различных реакций, по-разному зависящих от дозы облучения, то есть и в этом случае получается картина, сходная с летальным действием излучений на эмбрионы дрозофилы.

Таким образом, из результатов приведенных опытов следует, что: 1) группы или колонии идентичных клеток ведут себя как относительно простые многомишен-

ные системы; 2) внутренняя дифференцировка даже относительно простых многоклеточных систем, каковыми являются, например, эмбрионы растений и ранние стадии эмбриогенеза животных, вносят соответствующие усложнения, сводящиеся в первом приближении к тому, что появляется определенная иерархия значимости разных дифференцированных типов клеток для дальнейшей судьбы развивающегося многоклеточного образования (выживаемости, времени и характера гибели, типа возникающих отклонений от нормы и т. д.). Из этого, в свою очередь, следует, что лучевые поражения сложных многоклеточных организмов можно рассматривать с точки зрения взаимозависимости между количественно разными реакциями на дозу облучения по-разному дифференцированных, обладающих соответственно специфическими функциями в сложной системе и взаимовлияющими в результате нарушения этих функций группами тканевых клеток. У сложных многоклеточных организмов благодаря этому характер и степень лучевого поражения должны неизбежно зависеть от соответствующих «узких мест» и возможностей регенерации наиболее радиочувствительных соматических тканей.

2. «УЗКИЕ МЕСТА», ТКАНЕВАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ У МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Рассмотрение принципиальных основ лучевого поражения сложных многоклеточных организмов позво-
ночных, в частности млекопитающих, мы начнем с при-
мера лучевого поражения и регенерации кроветворной
ткани. Этот пример показателен по двум причинам: во-
первых, поражение костного мозга и кроветворных
тканей вообще является, как известно, одним из важ-
нейших «узких мест» в общем лучевом поражении мле-
копитающих, а во-вторых, в известном аспекте и в пер-
вом приближении он достаточно хорошо изучен, что
позволяет делать некоторые общие заключения.

Летальный исход облучения млекопитающих в ин-
тервале частично летальных доз в значительной мере
определяется соотношением темпов деструкции и реге-
нерации кроветворной ткани. Успешность регенерации

обусловливается, в основном, радиорезистентностью и абсолютным числом в индивидууме так называемых стволовых мультипотентных гемопоэтических клеток (аварийный запас). В настоящее время некоторые авторы склонны считать такими клетками аварийного запаса, например у мышей, так называемые колониеобразующие единицы (clon formation units, CFU) — клетки кроветворных органов, которые при инъекции облученным животным в кровяное русло образуют видимые невооруженным глазом колонии в их опустошенной облучением селезенке. Методика учета числа таких клеток, разработанная Тилом и Мак-Кулохом [Till, McCulloch, 1961], позволяет определять кривые выживания при облучении *in vitro* и *in vivo* и оценивать их общее число в организме животного.

На рис. 59, *a* показана зависимость выживаемости стволовых клеток костного мозга мышей от дозы после их облучения *in vitro* или *in vivo*, в организме животного-реципиента [McCulloch, Till, 1962]. На рис. 59, *б* приведены аналогичные данные для клеток лимфомы мышей, количественный учет которых также производили по методике селезеночных колоний [Bush, Bruce, 1965]. В обоих случаях способ облучения мало или вообще не влияет на параметры кривых выживания. Данные, приведенные на этих рисунках, получены путем выращивания облученных клеток в облученных животных-реципиентах. Однако, используя некоторые специальные приемы, можно получить колонии и на селезенках необлученных мышей. На рис. 59, *в* и *г*, приведены кривые зависимости выхода селезеночных колоний от числа необлученных ядросодержащих клеток костного мозга или лимфомы, введенных облученным (черные значки) или необлученным (светлые значки) животным [McCulloch, 1964; Bruce, van der Garg, 1963]. Эти данные показывают, что жизнеспособность таких клеток в организме облученных и необлученных мышей одинакова. Наконец, имеются данные о том, что пострадиационная деструкция клеток селезенки, тимуса и лимфатических узлов в равной мере интенсивно осуществляется в организме облученного животного и при культивировании *in vivo* в пористых мембранах в организме необлученных животных [Михайлов и др., 1964].

Имеется еще немало аналогичных фактов, и все они довольно убедительно показывают, что жизнеспособность облученных кроветворных и других клеток животных практически не зависит ни от способа облуче-

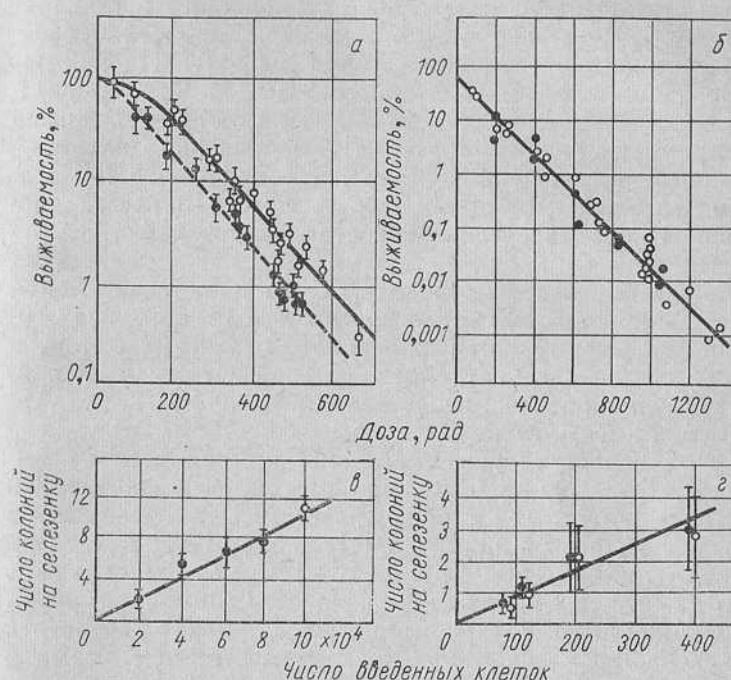


Рис. 59. Влияние условий облучения и культивирования клеток животных на их жизнеспособность, определяемую по методике селезеночных колоний:

а — кривые выживания стволовых клеток костного мозга после облучения *in vitro* (○) и *in vivo* (●) [McCulloch, T.H. 1962]; б — то же, для клеток лимфомы мышей [Bush, Bruce 1965]; в — зависимость выхода колоний на селезенке от числа необлученных костномозговых кардиоцитов, введенных необлученному (светлые значки) или облученному (черные значки) животному [McCulloch et al., 1964]; г — то же, для клеток лимфомы мышей [Bruce, van der Gaag, 1963].

ния (*in vivo* или *in vitro*), ни от степени лучевого поражения целостного организма. Выше мы уже отмечали (см. рис. 52), что радиочувствительность таких клеток остается постоянной независимо от того, облучаются ли отдельные клетки, или их группы, или мелкие колонии.

Количество ядросодержащих костномозговых клеток у лабораторных мышей весом 22—24 г, обычно используемых в радиобиологических опытах, равно примерно $6,8 \cdot 10^8$ на одно животное [van Bekkum, Vos, 1957]. Если выход селезеночных колоний составляет обычно $1 \cdot 10^4$ таких клеток (см. рис. 59, в), а в селезенке оседает и образует колонии около 17% вводимых в организм животному костномозговых CFU, то нетрудно рассчитать, что всего в костном мозге одной мыши содержится около $4 \cdot 10^5$ CFU. Располагая этими сведениями, а также зная кривые выживания CFU и мышей, которым они принадлежат, можно провести следующие небезы-interесные сопоставления.

На рис. 60 кривая 1 показывается зависимость от дозы числа жизнеспособных CFU на одну мышь линии СВА, а кривая 2 — зависимость от дозы процента мышей этой же линии, выживающих в течение 30 суток после облучения (материалы для построения этих кривых были любезно предоставлены авторам П. А. Харламовой и С. Я. Холевой).

При сопоставлении этих кривых видно, что на интервале доз 790—860 р, при которых выживает от 50 до 10% животных, у облученных мышей сохраняются жизнеспособными примерно 0,1—0,05% CFU исходного числа, т. е. 400—200 CFU на одну мышь. Это означает, что даже столь небольшое число оставшихся жизнеспособными клеток «аварийного запаса» может обеспечить регенерацию кроветворной системы и, тем самым, спасти животное от гибели. Приведенный расчет подтверждается и следующим обстоятельством. 100%-ное выживание мышей, облученных в интервале частично летальных доз, можно обеспечить, вводя им около 10^6 ядросодержащих клеток костного мозга необлученных животных [van Bekkum, Vos, 1957]. На 10^4 костномозговых кариоцитов приходится примерно 5—6 CFU. Следовательно, при костномозговой терапии для выживания смертельно облученного животного достаточно введения в его организм не более 500—600 жизнеспособных стволовых костномозговых клеток.

Конечно, рассмотренный пример является весьма упрощенной картиной происходящего в действительности. В последнее время появляются данные, говорящие в пользу наличия до конца еще не проанализированных

коррелятивных связей между реакциями на облучение костномозговой и лимфоидной тканей [Кабаков и др., 1967, а, б]. Однако, несмотря на возможные осложнения, приведенный пример ясно показывает не только

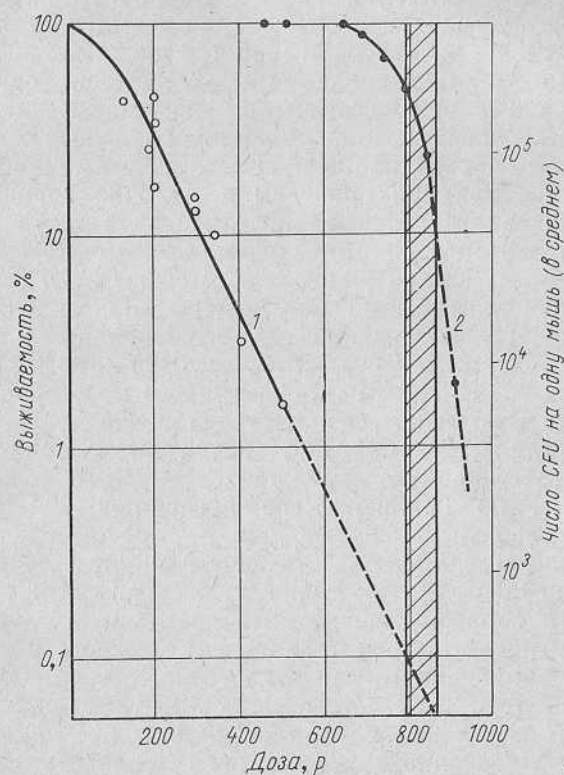


Рис. 60. Сопоставление кривых выживания для костномозговых CFU мышей — самцов линии СВА (кривая 1) и для целостных животных этой же линии (кривая 2) при действии γ -квантов Co^{60} . Заштрихован интервал доз, соответствующих 50—10%-ной выживаемости животных

желательность, но и необходимость рассмотрения даже комплексных радиобиологических реакций с точки зрения взаимоотношений между относительно простыми, количественными и анализируемыми с помощью принципов попадания и мишени реакциями определенных

групп клеток, выполняющих в организме разные функции.

Хочется подчеркнуть также, в связи с вышеизложенным примером, необходимость считаться с наличием в гомеостатической системе сложного многоклеточного организма различных «депо» плюрипотентных тканевых клеток, способных в случае необходимости (и, возможно, под влиянием воздействий, осуществляемых внутриорганизменными физиологическими корреляциями) играть роль «аварийного запаса», обеспечивающего пострadiaционную тканевую регенерацию. В качестве примера приведем достаточно хорошо проанализированный случай пострadiaционной регенерации наружного зернистого слоя коры мозжечка пятисуточных крысят [Корогодина, 1967]. До 90% клеток этого слоя погибает по типу интерфазной гибели в течение первых 4—6 ч после облучения дозами 400—1200 *p* (рис. 51). Остальные же клетки (примерно 10%), не гибнущие в интерфазе, через некоторое время начинают размножаться и, вступая в соответствующую тканевую дифференцировку, обеспечивают практически полную регенерацию наружного зернистого слоя коры мозжечка, по крайней мере после доз 400—600 *p*. Весьма вероятно, что подобного же рода явления будут найдены при соответствующем анализе пострadiaционной судьбы других тканей и органов.

Таким образом, можно дать следующую схематическую картину лучевого поражения сложного и высокодифференцированного многоклеточного организма.

Часто говорится о высокой радиочувствительности млекопитающих как сложных индивидов. Это справедливо, если сравнивать радиочувствительность высших позвоночных с радиочувствительностью одноклеточных и слабо дифференцированных беспозвоночных. Однако оказывается, что большинство соматических тканевых клеток млекопитающих как *in vivo*, так и *in vitro*, не менее, а более радиочувствительны (по значениям ЛД₅₀), чем организм в целом (см. рис. 46, б и 60). Но, постоянно имея в виду действенность принципов попадания и мишени, можно легко понять два следующих фундаментальных явления. Во-первых, как это было показано в предыдущих главах, изoэффективные клеточные дозы определяются или, во всяком случае, коррелируют с

величиной мишени клеточного ядра, которая у клеток млекопитающих больше, чем у низших организмов. К этому добавляется еще, как было показано на примерах, разобранных в этой главе, что для тканевых клеток радиочувствительность может определяться и фазой их специфической тканевой дифференцировки (возможно связанной со спецификой функционирования генетической управляющей системы); это выражается в том, например, что на определенных фазах дифференцировки клетки претерпевают не только митотическую, но и интерфазную гибель. Во-вторых, из того же принципа попадания следует, что при любых дозах среди массы тканевых клеток должны оставаться практически неповрежденные и полностью жизнеспособные клетки (в том или ином количестве, зависящем от дозы). В пределах индивида такие оставшиеся жизнеспособными клетки могут восстановить необходимую массу разрушенной облучением соматической ткани.

Эти процессы тканевой регенерации, конкурирующие с лучевым разрушением ткани, в целом ряде случаев усиливаются наличием вышеупомянутых «аварийных запасов» плюрипотентных соматических клеток, находящихся на более радиорезистентной стадии дифференцировки и способных в условиях разрушающейся облученной ткани начать быстрые процессы ее регенерации.

Только что описанные два обстоятельства, по-видимому, особенно характерны для «узких мест» в организме, т. е. для жизненно важных и в то же время относительно радиочувствительных тканей (кроветворная ткань, некоторые эпителиальные ткани, некоторые дифференцирующиеся ткани зародышей и т. д.). Основная же масса органов с низкой митотической активностью клеток, у которых слабо выражена интерфазная гибель и соответственно замедлена митотическая гибель, остается достаточно интактной для того, чтобы обеспечить в облученном индивиде осуществление регенерационных процессов. Конечно, как неоднократно уже упоминалось, эти основные процессы часто затемняются неизбежными физиологическими корреляциями, от которых, в частности, зависят и относительные темпы деструкции и регенерации, протекающих в соответственном «узком месте».

3. ПОДХОД К АНАЛИЗУ КОМПЛЕКСНЫХ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С ПОЗИЦИЙ ПРИНЦИПОВ ПОПАДАНИЯ И МИШЕНИ

Изложенное выше в этой главе можно подытожить следующим образом. Мы видели, что выражаемые относительно простыми кривыми доза — эффект явления клеточной смерти в культурах одноклеточных и тканевых клеток в ряде случаев можно интерпретировать с точки зрения принципов попадания и мишени. Столь же простой трактовке в отношении «выживания» поддаются и радиобиологические реакции колоний и групп клеток, где число «мишеней» увеличивается пропорционально числу отдельных клеток в колониях или группах. В ряде случаев установлено, что тканевые клетки могут обладать разной средней радиочувствительностью не только в разных тканях, но и в разных фазах дифференцировки в пределах одной и той же соматической ткани; особенно показателен в этом отношении приведенный на рис. 51 пример с недифференцированными клетками коры мозжечка крысят.

Таким образом, создается следующая картина. С одной стороны, жизненно важные, интенсивно функционирующие ткани представлены достаточным количеством клеток, что обеспечивает возможность клеткам, остающимся (согласно принципам попадания и мишени) слабо или совсем неповрежденными, осуществлять пострадиационную регенерацию. С другой стороны, в таких тканях всегда, по-видимому, имеется некоторый «аварийный запас» еще недифференцированных или слабо дифференцированных клеток, которые могут даже при почти полном лучевом «опустошении» ткани способствовать ее быстрой регенерации. Подобная (конечно, упрощенная) схема лежит, по-видимому, в основе существенных элементов общего лучевого поражения сложных многоклеточных организмов.

Конечно, дело осложняется целым рядом привходящих и сопутствующих явлений. Прежде всего, относительные состояния различных тканевых и органных систем у разных сложных индивидов варьируют. В связи с этим вряд ли можно говорить о постоянной и жесткой иерархии относительной поражаемости определенных систем у всех индивидов. Это, между прочим, выражается в своеобразной динамике острой лучевой гибели

животных: после достаточно массивного облучения отмирание происходит не по какой-либо простой вариационной кривой, а растянуто (у мышей, например, в течение около трех недель), с несколькими максимумами или пиками смертности через разное время после облучения [Лучник, 1957]. Разным максимумам, по-видимому, соответствует преимущественная роль разных «узких мест» в качестве непосредственной причины смерти. В основе первого максимума, несомненно, лежат повреждения эпителия тонкого кишечника, а одного из последующих максимумов — повреждение кроветворной ткани; до сих пор, однако, с достаточной точностью и детальностью патологоанатомическая картина смерти животных в разных максимумах еще не изучена.

Далее, совершенно естественно, что вариации в относительной значимости у разных индивидов лучевого поражения различных «узких мест» благодаря функциональной специализации различных органов и тканей и их взаимосвязанности в осуществлении общей жизнедеятельности индивида, через основанные на этом физиологические корреляции, неизбежно повлекут изменения в протекании процессов деструкции и реституции в каждом «узком месте», в зависимости от относительного состояния этих процессов в других «узких местах». К этому сводится весьма существенное для точного анализа «затемнение» картины лучевого поражения физиологическими корреляциями.

Наконец, совершенно естественно, что, особенно при достаточно высоких дозах, наряду с поражениями жизни. Иначе говоря, с повышением дозы возрастает в клетках поражаются и массовые молекулярные структуры. Иначе говоря, с повышением дозы возрастает в клетках число разнообразнейших радиационно-химических реакций, которые, естественно, могут вносить известную долю «беспорядка» в нормальное протекание биохимических и метаболических клеточных процессов. Это обстоятельство неизбежно будет в какой-то мере отражаться на относительных значениях протекания деструктивных и регенерационных процессов в различных специализированных тканях и «узких местах», тем самым затемняя каждую изолированно изучаемую картину процессов деструкции и регенерации, протекающих в различных определенных тканях.

В связи с только что сказанным нужно еще упомянуть о возможной роли в общей картине лучевого поражения сложных индивидов так называемых «радиотоксинов». В результате двух процессов — только что упоминавшихся разнообразных радиационно-химических реакций и образующихся при гибели клеток продуктов их распада — могут формироваться в облученном организме различные вещества, токсичные в отношении тех или иных тканей или осуществления определенных жизненных функций. Образующиеся в облученном организме вещества такого рода часто называют радиотоксинами. Их наличие в облученных объектах, как растительных, так и животных, достаточно точно доказано [Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии, 1966]. Возникает лишь вопрос об их однородности и относительной значимости в развитии общего лучевого поражения. Мы думаем, что на оба эти вопроса можно дать достаточно однозначные ответы.

Образующиеся в облученных организмах токсические вещества неизбежно должны быть в достаточной мере гетерогенными, а их концентрации — весьма малыми. У разных объектов и при разных дозах облучения количественно превалировать могут разные «токсины». С другой стороны, вряд ли в этих веществах можно усматривать какие-либо специфические «радиотоксины», а не просто смесь различных продуктов клеточного распада и радиационно-химических реакций. В частности, высказывается мнение о том, что некоторые существенные проявления токсемии лучевого поражения не специфичны для облучения, а могут сопровождать реакции организмов на самые различные повреждающие воздействия, так называемые стрессоры [Какушкина, 1966].

На второй вопрос — об относительном значении или даже ведущей роли возникающих в результате облучения токсических веществ — можно дать также весьма определенный ответ. Если такие токсические вещества и принимают какое-либо участие в общей картине процессов лучевого поражения, то они, во всяком случае, вторичные и не играют ведущей роли. Действительно, непосредственные клеточные реакции на облучение, протекающие хотя бы в клеточной ткани, в сходной

мере выраженные при локальном и тотальном облучении, настолько ясны по своим последствиям для целостного организма, что не требуют никаких дополнительных факторов для однозначного описания происходящего. Это же подтверждается общеизвестными фактами костномозговой терапии лучевой болезни, когда ничтожные количества имплантированных клеток (порядка долей процента от общего числа клеток кроветворных органов), несмотря на наличие в облученном организме токсических веществ, приводят к регенерации кроветворной ткани и спасению облученных индивидов.

Наконец, необходимо остановиться вкратце на возможном значении радиотоксинов в лучевой гибели клеток. Высказывалось мнение, что гибель облученной клетки может быть обязана в значительной мере эндогенным токсическим продуктам извращенного метаболизма отдельных пораженных цитоплазматических структур, например митохондрий, причем поражение каждой митохондрии может быть связано с одним или несколькими попаданиями. В определенных случаях при таком типе клеточной гибели ожидаемые кривые доза — эффект могут иметь такую же форму, как наблюдаемые в эксперименте [Кузин, 1966]. Между этой точкой зрения и принципами попадания и мишени, конечно, нет никаких противоречий. Она сформулирована, по-видимому, лишь для того, чтобы лишить непосредственные повреждения внутриядерных структур преимущественного значения в клеточном летальном эффекте. Однако, с одной стороны, не следует забывать о том, что большая часть синтетической работы в цитоплазме так или иначе контролируется ядром, с другой стороны, какова же тогда роль однозначно и точно показанных непосредственных лучевых изменений внутриядерных структур, управляющих большинством синтетических и метаболических процессов в клетке? Конечно, повреждения при облучении митохондрий, рибосом и других цитоплазматических структур участвуют в упоминавшемся выше лучевом воздействии на массовые внутриклеточные структуры, из которых каждая в отдельности отнюдь не решает судьбу клетки. Всегда нужно помнить о совершенно точно установленной бесконечно большей радиорезистентности цитоплазмы по сравнению с ядром [Астауров, 1963]. Чтобы с успехом проти-

вопоставлять теорию радиотоксинов принципу попадания в отдельные жизненно важные внутриядерные мишени, необходимо прежде показать (опровергнув результаты огромного числа генетических, цитогенетических и радиобиологических опытов) соответственно малый удельный вес в клеточной гибели непосредственных повреждений ядерных структур. Конечно, наличие различных вступающих в действие после облучения реакций между поврежденными внутриклеточными структурами и возникшими в результате попадания в различные мишени радиационно-химическими продуктами требует тщательного их изучения, отнюдь не противоречат принципам попадания и мишени, а являясь лишь конкретизацией следствий попаданий и связанных с ними первичных эффектов.

Заключение

Итак, на протяжении всей книги мы старались показать, что принципы попадания и мишени вполне применимы и играют решающую роль при количественных интерпретациях самых различных наблюдаемых эффектов облучения: вызывание мутаций, летальное действие на отдельные клетки, действие на соматические ткани сложных многоклеточных особей, влекущее за собой их гибель.

При этом с самого начала мы подчеркнули необходимость правильной формулировки самих принципов попадания и мишени, как *принципов*, а не частных теорий, и всех связанных с ними общих понятий. Ведь большинство недоразумений в области общей радиобиологии началось с неправильного и наивного представления, будто в классических работах, в которых применялись принципы попадания и мишени, формулировалась некая «теория попаданий и мишеней», утверждавшая идентичность первичных физических пусковых механизмов радиобиологических реакций с их конечным осуществлением. Совершенно ясно, однако, что никто из строго применявших эти принципы не допускал, что, например, иницирующая реакцию ионизация, имевшая место в некоем эффективном объеме, идентична или хотя бы непосредственно связана с конечной формой изменения соответствующей внутриклеточной структуры и биологическими следствиями этого изменения. В соответствующих работах речь шла лишь о первичных пусковых механизмах и возможности их точной количественной интерпретации в связи с характером проводившихся облучений [Ли, 1963; Timofeef-Ressovsky, Zimmer, 1947]. Эвристическое значение и плодотворность применения принципов попадания и мишени (вместе с точно формулируемыми сопутствующими по-

нениями) в количественной радиобиологии мы и старались показать.

Надо, однако, остановиться несколько подробнее на тех недоразумениях и ошибочных утверждениях и формулировках, которые довольно часто встречались в сводках и книгах, посвященных общим обзорам радиобиологии за последнее время.

Наиболее часто встречающимися ошибками в отношении принципов попадания и мишени являются следующие. Прежде всего то, о чем только что упоминалось: подмена применения *принципов* попадания и мишени *теорией*, якобы отождествляющей непосредственные результаты попадания с конечной радиобиологической реакцией. Произведя такую подмену, соответствующие авторы резонно боролись с теми же сформулированной точкой зрения на «теорию мишени».

Следующим широко распространенным недоразумением было утверждение о том, что, якобы с точки зрения «теории попадания и мишени» «попадание», т. е. оставление энергии одной или нескольких ионизаций, должно произойти непосредственно в месте действия (т. е. там, где в соответствующей молекулярной структуре происходит переход из одного более или менее стабильного состояния в другое такое же состояние, переход являющийся физическим пусковым механизмом дальнейших изменений, приводящих к единице наблюдаемой биологической реакции). При этом полагали, что возникновение при облучении продуктов радиолитиза воды или других химически активных молекул противоречит применению принципа попадания в радиобиологии. Возможное в целом ряде случаев действие на реагирующую единицу (в месте действия) таких продуктов радиолитиза называют часто до сих пор «непрямым действием», хотя оно, в сущности, является лишь одной из форм миграции энергии от места первичной адсорбции в пределах эффективного объема к месту действия, ничего не меняя в отношении применимости принципа попадания. Только что упомянутая ситуация не имеет ничего общего с истинным «непрямым», или «косвенным», действием облучения, когда изменения, происшедшие в одном месте облученного индивида, в результате физиологических корреляций могут сказываться на функционировании других, непосредственно

облучением не поврежденных частей. Не надо, следовательно, забывать, что, согласно принципу попадания, первичная абсорбция энергии может произойти в любой точке определенного эффективного объема, из которой в результате миграции химически-активных продуктов радиолиза (что имеет место в водных растворах и богатых свободной водой средах) или других механизмов миграции энергии, она с высокой вероятностью может достичь места действия в реагирующей единице. Надо иметь в виду, что в этом случае попадание не обязательно вызывает регистрируемый эффект, ибо изменение реагирующей единицы может оказаться малостабильным или способным к восстановлению.

Далее, некоторые авторы полагают (возможно, в связи с тем, что до сих пор принцип попадания наиболее последовательно применялся в радиационной генетике), что будто бы согласно «теории мишени» все «беды», вызываемые облучением, происходят лишь от попадания непосредственно в хромосомы, будто бы «теория мишени» *отрицает возможность* возникновения (в результате таких же попаданий) других реакций в других внутриклеточных структурах. Совершенно ясно, что такого рода возражения против принципов попадания и мишени в общей форме лишены как экспериментального, так и логического основания. Другое дело, что на основании огромной суммы экспериментальных фактов (а не одних только теоретических построений!) мы все же можем большинство фатальных для клетки эффектов облучения относить за счет первичного прямого повреждения основных управляющих систем, т. е. ядерного аппарата.

Наконец, как было показано в гл. 4 и 5, наличие модифицирующего действия на радиобиологические реакции ряда сопутствующих облучению физических, химических и биологических факторов и явлений пост-радиационного восстановления также ни в какой мере не противоречит принципам попадания и мишени. Ведь между первичными физическими пусковыми механизмами соответствующих единиц реакций и конечным проявлением этих реакций может располагаться длинная и сложная цепь процессов, на разные звенья которой могут (а иногда и должны) оказывать влияние различные сопутствующие факторы и восстановление исходных со-

стояний у нестабильных изменений. Такого рода различные воздействия, модифицирующие конечный эффект, часто осложняют количественный анализ непосредственных эффектов облучения; но в то же время их детальное изучение является основным путем конкретизации осуществления различных единиц радиобиологических реакций. Иногда такое изучение может привести к открытию целого нового комплекса феноменов, как это имело место, например, при обнаружении и доказательстве подробно описанных в главе 5 явлений пострadiационного восстановления.

В заключение отметим следующее.

Действительно большой и интересной проблемой радиобиологии является возможность с помощью применения реакций на облучение выявлять и изучать элементарные внутриклеточные структуры и процессы. Для этого нужно всячески приумножать проведение больших серий разносторонних точных и количественно анализируемых опытов на наиболее удобных объектах, с учетом однозначно и объективно определяемых возможно более элементарных реакций.

Конечно, нельзя забывать и о большом разделе радиобиологии, имеющем в первую очередь практическое значение для ряда прикладных биологических дисциплин, таких, как медицина, сельское хозяйство и т. д., в котором исследуются достаточно комплексные реакции у многоклеточных организмов. В этих областях радиобиологии, как мы старались показать в этой книге, применение в разумных формах принципа попадания с сопутствующими ему понятиями имеет в первую очередь значение в качестве исходной основы теоретической интерпретации и предвидения результатов в более сложных ситуациях; кроме того, его применение неизбежно при любых попытках количественных интерпретаций опытных данных. При этом, естественно, должны использоваться результаты наиболее строгих и точных применений принципов попадания и мишени, полученные на простых объектах и реакциях и в модельных системах.

Наиболее актуальными вопросами дальнейшей разработки количественной и теоретической радиобиологии на ближайшее время мы считаем прежде всего разработку теории различных механизмов миграции

энергии в пределах эффективных объемов. Хотя по изучению миграции энергии уже многое сделано в области физики твердого тела, относительно органических макромолекул и надмолекулярных структур, встречающихся в живых клетках, нам еще известно очень мало. Здесь нужны будут опыты и теоретические расчеты, проводимые теоретиками-физиками, химиками и биологами на подходящих, разумно подобранных макромолекулярных модельных системах разной структуры и сложности. Интересное начало этому направлению у нас положено работами Ю. А. Владимирова (1965) и С. В. Конева (1965).

Далее, в связи с развитием работ по механизмам миграции энергии необходима, в первую очередь путем теоретических исследований, конкретизация свойств самих эффективных объемов (в частности, конфигурации и степени размытости границ). В тесной связи с этими работами должен стоять анализ возможностей экспериментальных воздействий на условия миграции энергии в эффективных объемах и на размеры эффективных объемов и выход реакций на единицу дозы.

Весьма существенным надо считать проведение радиационно-химических опытов со всесторонним применением принципа попадания на удачно выбранных (с биологической точки зрения) молекулярных и мицеллярных моделях; такие опыты покажут строго и точно границы применимости принципа попадания с сопутствующими понятиями при анализе различных встречающихся в радиобиологии экспериментальных ситуаций.

Наконец, одной из основных задач теоретической радиобиологии остается детальный физико-химический и биохимический анализ цепи реакций и процессов, связывающей исходный физический пусковой механизм с конечной формой проявления соответствующих последствий облучения, а также изучение путей и способов экспериментальных воздействий на различные звенья этой цепи. Подобного рода исследования должны проводиться на возможно более простых, точно и количественно установимых однозначных единицах реакции, на удобных объектах исследования; попытки же детально разобраться в слишком сложных и трудно анализируемых системах часто могут приводить лишь к дезинформации.

Литература

- Арман И. П. Мутационный процесс у дрожжей разной плоидности. Дисс. М., 1966.
- Астауров Б. Л. Прямое доказательство ядерной природы биологического эффекта X-лучей и независимости конечных последствий рентгенизации от первичных изменений цитоплазмы. «Журн. общ. биол.», 8, 421 (1947).
- Астауров Б. Л. Функциональный принцип в оценке относительной значимости радиационных поражений ядра и цитоплазмы (генетическая теория лучевой болезни). В кн. «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений». М., Изд-во АН СССР, 1963, стр. 140.
- Бак З., Александер П. Основы радиобиологии. М., Изд-во иностр. лит., 1963.
- Барсуков В. С., Малиновский О. В. и Митюшова Н. М. О природе пострадиационного восстановления дрожжевых клеток от доминантных леталей при временной задержке размножения. «Генетика», № 4, 136 (1966).
- Бельговский М. Л. Зависимость частоты транслокаций у дрозофилы от дозы X-лучей. Бюлл. Инст. генет. АН СССР, 11, 93, (1937).
- Бельговский М. Л. Зависимость частоты мелких перестроек хромосом у *Drosophila melanogaster* от дозы рентгеновских лучей. «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 159 (1939).
- Блум В. Реакция клеток на внешние воздействия. В кн. «Современные проблемы биофизики», 1. М., Изд-во иностр. лит., 1961, стр. 35.
- Бурлакова Е. В., Пархоменко И. М. Динамика пострадиационного размножения клеток СОЦ в условиях восстановления и химической защиты от облучения. В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 318.
- Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. В кн. «Теоретические основы селекции растений». Т. 1. М., Сельхозгиз, 1935, стр. 75.
- Вальдштейн Э. А., Жестянников В. Д. Пострадиационное восстановление *Escherichia coli*, облученных в различных условиях (в воздухе, в азоте и в азоте в присутствии цистеина). «Радиобиология», 3, 809 (1963).
- Вальдштейн Э. А., Жестянников В. Д. Пострадиационное восстановление у бактерий. В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 5.
- Владимиров Ю. А. Фотохимия и люминесценция белков. М., «Наука», 1965.
- Восстановление клеток от повреждений. М., Госатомиздат, 1963.
- Граевский Э. Я., Константинова М. М., Соколо-

- ва О. М., Тарасенко О. Г. Роль эндогенных SH-соединений в радиозащитном действии аноксии и аминотиолов. В кн. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 192.
- Граевский Э. Я., Шапиро И. М. О деструкции и репарации клеток при поражении организма ионизирующей радиацией. «Успехи совр. биол.», 47, 185 (1959).
- Граевский Э. Я., Шульмина А. И. Значение изменений, возникающих в облученной водной среде, в процессе повреждения клетки ионизирующей радиацией. В кн. «Вопросы цитологии и общей физиологии». М.—Л., Изд-во АН СССР, 1960, стр. 80.
- Делоне Н. А. Перестройки хромосом, вызванные ионизирующими излучениями. В кн. «Ионизирующие излучения и наследственность». М., Изд-во АН СССР, 1960, стр. 104.
- Дубинин Н. П., Дубинина Л. Г., Тарасов В. А. О механизме химической защиты при радиационном поражении хромосом человека в культуре ткани. «Генетика», № 5, 68 (1965). «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966.
- Зиновьева Е. Г. О причинах гибели инфузорий под действием рентгеновских лучей. «Докл. АН СССР», 121, 80 (1958).
- Иванов В. И., Санина А. В. и Тимофеева-Ресовская Е. А. Опыты по радиационной генетике *Arbidopsis thaliana* (L.) Neunh. 2. Выживание и плодовитость G₁-поколения при облучении покоящихся семян. «Генетика», № 5, 16 (1967).
- Ивенс Х. Повреждение хромосом ионизирующими излучениями. Перев. с англ. М., Атомиздат, 1966.
- Изможеров Н. А. Влияние полиплоидии на некоторые цитогенетические эффекты действия ионизирующей радиации у растений. Дисс., Пермский университет, 1963.
- Кабаков Е. Н. Модель «снятия эффективной дозы» и реактивация клеток, облученных ультрафиолетом. «Радиобиология», 4, 76 (1964).
- Кабаков Е. Н., Корогодин В. И. О природе плато фотореактивации дрожжевых клеток. В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 109.
- Кабаков Е. Н., Фофанова К. А. и Пересторонина Н. Н. Регенерация местно облученного костного мозга (радиобиологические и гематологические аспекты). В кн. «Материалы конференции «Восстановительные процессы при поражении организма ионизирующей радиацией». М., 1966, стр. 18.
- Кабаков Е. Н., Фофанова Е. А., Пересторонина Н. Н. Кинетика насыщенности костного мозга мышей и крыс лимфацидами при местном облучении. «Радиобиология», 7, (1967).
- Какушкина М. Л. К вопросу о токсичности липидов при лучевом поражении животных. В кн. «Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии». М., Атомиздат, 1966, стр. 151.
- Капульцевич Ю. Г. О необратимой компоненте лучевого поражения дрожжевых клеток. 2. Неспособные к восстановлению клетки или необратимые элементарные повреждения? В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 60.
- Капульцевич Ю. Г. О температурной модификации дозовых

- кривых выживания дрожжевых клеток в пострadiационный период. «Радиобиология», 7, 367 (1967).
- Капульцевич Ю. Г., Близник К. М. О роли восстановления в модификации дозовых кривых выживания дрожжей при выращивании клеток на средах с разным содержанием питательных веществ. «Радиобиология», 7, 572 (1967).
- Капульцевич Ю. Г., Корогодина В. И. Статистические модели пострadiационного восстановления клеток. «Радиобиология», 4, 349 (1964).
- Карабаев Э. М. Зависимость радиационного поражения дрожжей от их физиологического состояния. «Радиобиология», 2, 414 (1962).
- Карабаев Э. М. и Холева С. Я. О необратимой компоненте лучевого поражения дрожжевых клеток. 1. Роль метаболизма клеток в формировании необратимых повреждений. В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 56.
- Кимболл Р. Ф. Пострадиационные процессы при индукции рецессивных леталей ионизирующими излучениями. В кн. «Восстановление клеток от повреждений». М., Госатомиздат, 1963, стр. 247.
- Кольцов Н. К. Организация клетки. М.—Л., Биомедгиз, 1936.
- Конев С. В. Электронно-возбужденные состояния биополимеров. Минск, Изд-во «Наука и техника», 1965.
- Корогодина В. И. Действие ионизирующих излучений на клетки. В кн. «Основы радиационной биологии». М., Изд-во «Наука», 1964, стр. 82.
- Корогодина В. И. Проблемы пострadiационного восстановления. М., Атомиздат, 1966.
- Корогодина В. И. и Карабаев Э. М. О зависимости эффективности гамма-облучения диплоидных и гаплоидных дрожжей от условий пострadiационного воспитания. «Радиобиология», 2, 824 (1962).
- Корогодина В. И. и Лю Ай-шенъ. Закономерности действия ионизирующих излучений на гаплоидные дрожжи. «Цитология», 1, 379 (1959).
- Корогодина Ю. В. Особенности повреждения клеток куриной бластодермы при облучении *in ovo*. «Радиобиология», 5, 402 (1965).
- Корогодина Ю. В. Интерфазная гибель дифференцирующихся нервных клеток. 1. Исследования на куриных эмбрионах. «Радиобиология», 6, 560 (1966).
- Корогодина Ю. В. Пострадиационная интерфазная гибель активно делящихся клеток животных. Дисс. Обнинск, 1967.
- Корогодина Ю. В., Дубровина В. М. Интерфазная гибель дифференцирующихся нервных клеток. 2. Исследования на мозжечках новорожденных крысят. «Радиобиология», 6, 891 (1966).
- Кузин А. М. Радиотоксины, их возможная природа и роль в развитии радиационного поражения. В кн. «Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии». М., Атомиздат, 1966, стр. 5.
- Ли Д. Э. Действие радиации на живые клетки. М., Госатомиздат, 1963.
- Лучник Н. В. О распределении во времени смертности облученных животных. «Биофизика», 2, 487 (1957).

- Лучник Н. В. Об одном из возможных применений теории вероятностей в радиационной цитогенетике. В кн. «Применение математических методов в биологии», Т. 2. Л., Изд-во ЛГУ, 1963.
- Лучник Н. В. О природе первичных повреждений хромосом в связи с проблемой пострадиационного восстановления. В сб. «Защита и восстановление от лучевых повреждений». М., «Наука», 1966, стр. 118.
- Лучник Н. В., Порядкова Н. А., Царапкин Л. С. и Тимофеев-Ресовский Н. В. О механизме восстановления хромосомных повреждений на клеточном уровне. В кн. «Восстановительные процессы при радиационных поражениях». М., Атомиздат, 1964, стр. 5.
- Лучник Н. В., Царапкин Л. С. Влияние цистеина на цитогенетические поражения, вызванные гамма-лучами у гороха. «Цитология», 1, 73 (1959).
- Медведева Г. А., Мейсель М. Н., Ионичева Г. А. Восстановление дрожжевых организмов после инактивации хлорэтиламином и их адаптация к этому соединению. «Докл. АН СССР», 159, 656 (1964).
- Михайлов В. П., Георгиев И., Хуссар Е. К вопросу о пролиферации тканей лимфоидных органов после воздействия ионизирующей радиации. *Folia Medica*, 6, 71 (1964).
- Мосин А. Ф. Некоторые данные о потреблении кислорода дрожжевыми клетками при пострадиационном восстановлении. В сб. «Защита и восстановление при лучевых повреждениях». М., «Наука», 1966, стр. 74.
- Мясник М. Н., Корогодин В. И. О корреляции жизнеспособности необлученных и облученных бактерий *E. coli* B, выращиваемых на разных питательных средах. «Радиобиология», 7, 247 (1967).
- Надсон Г. А. Влияние радия на дрожжи в связи с общей проблемой действия радия на живое вещество. «Вестн. рентгенол.», 1, 45 (1920).
- Нейфах А. А. Сравнительное радиационное исследование морфогенетической функции ядер в развитии животных. «Общ. биол.», 22, 1, 42 (1961).
- Кларк Э. Действие величины и мощности дозы на радиационные повреждения сперматогоний и ооцитов мышей, определяемое по выживаемости клеток. В сб. «Восстановление клеток от повреждений». М., Госатомиздат, 1963, стр. 261.
- Парибок В. П. и Вальдштейн Э. А. Противолучевое действие инертных газов и низкомолекулярных наркотиков. 1. Отсутствие защитного эффекта сжатого азота при облучении *Escherichia coli* Вг. в водной взвеси. «Радиобиология», 4, 186 (1964).
- Попова М. Ф., Булякова Н. В. Влияние фракционированного облучения на нормальный и регенерирующий эпителий роговицы глаза. В кн. «Условия регенерации органов и тканей у животных. Материалы совещания 12—15 апреля 1966 г.» М., «Наука», 1966, стр. 212.
- Преображенская Г. И. и Тимофеев-Ресовский Н. В. Возможная связь радиоустойчивости с филогенетической системой у культурных растений. «Докл. АН СССР», 143, 1219 (1962).
- Радиационные эффекты в физике, химии и биологии. Перев. с англ. М., Атомиздат, 1965.

- Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии. М., Атомиздат, 1966.
- Рассел В. Л. Влияние интенсивности облучения на частоту мутаций у мышей. В сб. «Восстановление клеток от повреждений». М., Госатомиздат, 1963, стр. 276.
- Свенсон К. Влияние напряжения кислорода на образование разрывов хромосом под действием ионизирующих излучений. В кн. «Вопросы радиобиологии». М., Изд-во иностр. лит., 1956, стр. 407.
- Соубельс Ф. Х., Тейтс А. Д. Восстановление от предмутагенных повреждений, вызванных рентгеновскими лучами в течение сперматогенеза. В сб. «Восстановление клеток от повреждений». М., Госатомиздат, 1963, стр. 284.
- Струнников В. А. Относительный эффект первичных радиационных повреждений ядра и цитоплазмы половых клеток тутового шелкопряда. «Цитология», 2, 573 (1960).
- Сумаруков Г. В. Окислительно-восстановительный потенциал как показатель противолучевой эффективности различных воздействий. «Радиобиология», 3, 805 (1963).
- Тарусов М. Н. Основы биологического действия радиоактивных излучений. М., Медгиз, 1954.
- Тарусов Б. Н. Первичные процессы лучевого поражения. М., Госатомиздат, 1962.
- Тобиас К. Зависимость некоторых биологических эффектов излучения от относительной потери энергии. В сб. «Радиобиология». М., Изд-во иностр. лит., 1955, стр. 364.
- Тринчер К. С. О понижении устойчивости облученных эритроцитов в щелочной среде. «Биофизика», 4, 78 (1959).
- Усманов П. Д. Влияние температуры во время намачивания семян гороха на скорость восстановления лучевых повреждений хромосом. Тем. сб. № 5, Отдела физиол. и биофиз. раст. АН ТаджССР, Душанбе (1964).
- Фесенко Э. В., Порядкова Н. А. Пострадиационное восстановление при облучении семян разной влажности. «Радиобиология», 6, 734 (1966).
- Циммер К. Г. Проблемы количественной радиобиологии. М., Госатомиздат, 1962.
- Харламова П. А., Холева С. Я. О методах оценки состояния облученных и необлученных клеток костного мозга при инкубации *in vitro*. В кн. «Материалы конференции «Восстановительные процессы при поражении организма ионизирующей радиацией». М., 1966, стр. 23.
- Хвостова В. В., Гаврилова А. А. Изменения количества транслокаций у *Drosophila melanogaster* в зависимости от дозы X-лучей. «Биол. журн.», 7, 381 (1938).
- Холлендер А., Степльтон Дж. Влияние химических воздействий до и после облучения на радиочувствительность бактерий и значение этих исследований для проблемы химической защиты высших организмов. В кн. «Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм». М., Изд-во иностр. лит., 1958, стр. 154.
- Шапиро Н. И., Серебровская Р. Сравнительная мутабельность половой и второй хромозомы *Drosophila melanogaster*. «Докл. АН СССР», 4, 228 (1934).

- Шехтман Я. Л. Мутационный эффект и законы количественного действия рентгеновых лучей. «Журн. эксперим. биол.», **6**, 271 (1930).
- Эйдус Л. X. Об участии кислорода в радиобиологических эффектах. «Радиобиология», **4**, 329 (1964).
- Alper T. Cellular radiobiology. Annual Rev. Nuclear Sci., **10**, 489 (1960).
- Alper T. Variability in the oxygen effect observed with microorganisms. Part II. *Escherichia coli* B. Intern. J. Rad. Biol., **3**, 369 (1961).
- Alper T. Interactions of modifying treatments and the light they throw on targets for cell death. In: Cellular Radiation Biology. Baltimore. The Williams a. Wilkins Company, 1965, p. 272.
- Alper T., Gillies N. E. The relationship between growth and survival after irradiation of *Escherichia coli* strain B and two Resistant mutants. J. Gener. Microbiology, **22**, 113 (1960).
- Alper T., Gillies N. E., Elkind M. M. The sigmoid survival curve in radiobiology. Nature, **186**, 1062 (1960).
- Atwood K. C., Mukai F. Survival and mutation in *Neurospora* exposed at nuclear detonations. Amer. Natural., **88**, 295, 1954.
- Bacchetti S., Elli R., Falchetti R., Mauro F., Sacchi A. Recovery from X-ray-induced sub-lethal damage in *Saccharomyces cerevisiae* cells of different ploidy. Int. J. Rad. Biol., **10**, 213 (1966).
- Bacchetti S., Fainella A., Mauro F. Riparazione del danno subletale da raggi X in cellula di *Saccharomyces cerevisiae* sopravvissute all'irradiazione. Atti Associazione Genetica Italiana, **9**, 61 (1964).
- Bauer H. Die Chromosomenmutationen. Zsch. Abstammungsl., **76**, 309, 1939.
- Bauer H. Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila*. Chromosoma, **2**, 407 (1942).
- Beam C. A., Mortimer R. K., Wolfe R., Tobias C. The relation of radioresistance to budding in *Saccharomyces cerevisiae*. «Arch. Biochem. a. Biophys.», **49**, 110 (1954).
- Beatty A. V. a T. W. Beatty. Metabolic inhibitors and chromosome rejoining. Amer. J. Bot., **46**, 317 (1959).
- van Bekkum D. W., Vos O. Immunobiological aspects of homo- and heterologous bone marrow transplantation in irradiated animals. J. Cellular Compar. Physiol., **50**, Suppl. I, 139 (1957).
- Bender M. A., Wolf S. X-ray-induced chromosome aberrations and reproductive death in Mammalian cells. The American Naturalist, **95**, 39 (1961).
- Blau M., K. Altenburger. Über einige Wirkungen von Strahlen. II. Physik, **12**, 315 (1922).
- Bonet-Maury P. Méthodes statistiques de titrage des ultravirus. Ann. Inst. Pasteur, **68**, 491 (1942).
- Braun R., H. Holthausen. Einfluß der Quantengröße auf die biologische Wirkung verschiedener Röntgenstrahlenqualitäten. Strahlentherapie, **34**, 707 (1929).
- Bridgman J., Kimball R. F. The effects of X-rays on division rate and survival of *Tillina magna* and *Colpoda* sp. with an account of delayed death. J. Cellular Compar. Physiol., **44**, 431 (1954).

- Bruce W. R., vander Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. *Nature*, **199**, 79 (1963).
- Berg R. L. The relative frequency of mutations in different chromosomes of *Drosophila melanogaster*. I. Lethal mutation. *Genetics*, **22**, 225 (1937).
- Brustad T. Molecular and cellular effects of fast charged particles. *Radiat. Res.*, **15**, 139 (1961).
- Buchman W. H., Zimmer K. G. Zur Frage der Steigerung der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgenstrahlen durch Einbringung schweratomiger Salze in den Organismus. III. *Zsch. Vererbungsl.*, **79**, 192 (1941).
- Bush R. S., Bruce W. R. The radiation sensitivity of a transplanted murine lymphoma as determined by two different assay methods. *Radiation Res.*, **25**, 503 (1965).
- Buzzati-Traverso A. A., Cavalli L. L. *Theoria dell'urto ed unita biologiche elementari*. Longanesi and Co., Milano, 1948.
- Caldecott R. S. Postirradiation modification of injury in barley — its basic and applied significance. *Proc. 2nd Int. Conf. PUAE*, **27**, 260 (1958).
- Catsch A. Versuche an *Drosophila melanogaster* über die Dosisabhängigkeit strahlenduzierter Chromosomenbrüche. *Vererbungsl.*, **82**, 155 (1948).
- Catsch A., Panschin I. B. Über die Entstehung der Chromosomen — mutationen. *Z. Vererbungslehre*, **82**, 164 (1948).
- Cellular Radiation Biology. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1965.
- Crowther J. A. Some consideration relative to the action of X-rays on tissue cells. *Proc. Roy. Soc.*, **96**, 207 (1924).
- Crowther J. A. The action of X-rays on *Colpidium colpoda*. *Proc. Roy. Soc.*, **B100**, 390 (1926).
- Dauch F., Apitzsch U., Catsch A., Zimmer K. G. RBE schneller Neutronen bei Auslösung von Mutationen bei *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res.*, **3**, 185, 1966.
- Deering R. A. Mutation and killing of *Escherichia coli* WP-2 by accelerated heavy ions and other radiations. *Radiat. Res.*, **19**, 169, (1963).
- Deschner E. E., Gray L. H. Influence of oxygen tension on X-ray-induced chromosomal damage in Ehrlich ascites tumor cells irradiated in vitro and in vivo. *Radiat. Res.*, **11**, 115 (1959).
- Dessauer F. Über einige Wirkungen von Strahlen. *Zsch. Physik*, **12**, 38 (1922).
- Ebert M., Hornsey S., Howard A. Effect of inert gases on oxygendependent radiosensitivity. *Nature (London)*, **181**, 613 (1958).
- Edington C. W., Randolph M. L. A comparison of the relative effectiveness of radiations of different average linear transfer on the induction of dominant and recessive lethals in *Drosophila*. *Genetics*, **43**, 715 (1958).
- Efroimson W. P. Die transmutierende Wirkung der X-Strahlen und das Problem der genetischen Evolution. *Biol. Zbl.*, **52**, 674 (1931).
- Elkind M. M., Sutton H. X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature*, **184**, 1293 (1959).

- Evans H. J., Sparrow A. H. Nuclear factors affecting radiosensitivity. II. Dependence on nuclear and chromosome structure and organization. In: Brookhaven Sump. in Biol., No. 101 (1961).
- Fabergé A. C. Chromosome breakage by X-rays at very low temperatures. *Radiat. Res.*, **1**, 130 (1954).
- Fritz-Niggli H. Vergleichende Analyse Der Strahlenschädigung von *Drosophila* — Eiern mit 180 keV und 31 MeV. *Fortschr. Röntgenstr.*, **83**, 178 (1955).
- Fujii I. Relative biological effectiveness of 14 MeV fast neutrons to ^{60}Co gamma-rays in einkorn wheat. Biological Effects of Neutron Irradiation. IAEA, **2**, 217 (1964).
- Fujii I., 1964. RBE in *Arabidopsis* treated with fission and 14 MeV neutrons to gamma-rays. *Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. Japan.*, **14**, 123, 1934.
- Giles N. H., Beatty A. V., Riley H. P. The relationship between the effects of temperature and of oxygen on frequency of X-ray-induced chromosome aberration in *Tradescantia* microspores. *Genetics*, **36**, 552 (1951).
- Giles N. H., Riley H. P. Studies on the mechanism of the oxygen effect on the radiosensitivity of *Tradescantia* chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **36**, 337 (1956).
- Gillies N. E., Alper T. Reduction in the lethal effects of radiations on *Escherichia coli* B by treatment with chloroamphenicol. *Nature*, **183**, 237 (1959).
- Glocker R., Reuss A. Versuche über die Wirkung von Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge auf biologische Objekte. I. Strahlentherapie, **46**, 137 (1933).
- Gordy W., Shields H. Structure and orientation of free radicals by ionizing radiation in certain native proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **46**, 1124, (1960).
- Hanson F. B., Heys F. Radiation and lethal mutations in *Drosophila*. *Amer. Naturalist*, **66**, (1932), (Цит. по: Timoféeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G., 1947).
- Helmstetter C. E., Uretz R. B. X-ray and ultraviolet sensitivity of synchronously dividing *Escherichia coli*. *Biophys. J.*, **3**, 35, 1963.
- Henriksen T. Radiation-induced radicals in water, Deuterium oxide and aqueous solutions of glycine at low temperatures. *Nature*, **193**, 371 (1962).
- Hollaender A. Modification of radiation response. *Proc. Internat. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy*, Geneva, 1955, **16**, N. Y., 1956, p. 106.
- Hollaender A., Stapleton G. E. Modification of radiation damage after exposure to X-rays. *Brit. J. Radiol.*, **27**, 117 (1954).
- Hollaender A., Stapleton G. E., Martin F. L. X-ray sensitivity of *E. coli* modified by oxygen tension. *Nature (L.)*, **167**, 103 (1957).
- Holweck F. Etude énergétique de l'action biologique de diverses radiations. *C. R. Acad. Sci.*, **190**, 527, 1930.
- Holweck F. Mesure des dimensions élémentaires des virus par la méthode d'ultramicroscopie statistique. *C. R. Acad. Sci.*, **207**, 380, 1938.
- Holweck F., Lacassagne A. Sur la mécanique de l'action cyto-caustique des radiations. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 766 (1930).
- Holweck F., Lacassagne A. Action des rayons alpha sur «cibles»

- correspondant aux principales lésions observées. C. R. Soc. Biol. **107**, 812, 1931.
- Holweck F., Lacassagne A. Essai d'interprétation quantique des diverses lésions produites dans les cellules par les radiations. C. R. Soc. Biol., **107**, 814 (1931).
- Hussey R. G., Thompson W. R., Calloun E. F. The influence of X-rays on the development of *Drosophila* larvae. Science, **66**, 65 (1927).
- Hutchinson F. The distance that a radical formed by ionizing radiation can diffuse in a yeast cell. Radiat. Res. **7**, 473, 1957.
- Johnston C., Winchester A. M. Studies on reverse mutations in *Drosophila melanogaster*. Amer. Naturalist, **68**, (1934). (Цит. по: Тимофеев-Рессовский Н. В., Zimmer K. G., 1947).
- Kada T. Modification of lethal and mutagenic radiation damages by genetic «repair» factors in bacteria. In: Proc. Conf. Mechanisms of the dose rate effect of radiation at the genetic and cellular level. Oiso, 4—7 Nov. 1964. Genet. Soc. Jap., 1965, p. 242.
- Kimball R. F. The effect of radiations on genetic mechanisms of *Paramecium aurelia*. J. Cellular. Compar. Physiol., **35**, Suppl. I, 157 (1956).
- Kimball R. F. Modification of the Genetic effects of X-rays by treatment after irradiation. In: Proceedings of the International Genetics Symposium, 1956, Japan, 1957, p. 252.
- Kimball R. F., Gaither N. Influence of oxygen upon genetic and nongenetic effects of ionizing radiation in *Paramecium aurelia*. Proc. Soc. Experim. Biol. Med., **82**, 471 (1953).
- Kohn H., Gunter S. E. Factors influencing the radioprotective action of cysteine: effects in *Escherichia coli* due to drug concentration, temperature, time and pH. Radiat. Res., **11**, 732 (1959).
- Kondo S. RBE of fast neutrons to γ -rays for mutations in relation to repair mechanism. In: Proc. Conf. Mechanisms of the dose rate effect of radiation at the genetic and cellular level. Oiso, 4—7 Nov. 1964. Genet. Soc. Jap., 1965, p. 97.
- Korogodin V. I., Kapultzevich Yu. G., Myasnik M. N., Mosin A. F., Gridnev V. V. Processes of cell recovery: dependence of survival of irradiated yeast, bacteria and phages on postirradiation incubation conditions. Comm. to the 2-nd Internat. Biophys. Congress, Vienna, Sept. 4—9, 1966, Manuscr.
- Lacassagne A., Holweck F. Sur la radiosensibilité de la levure *Saccharomyces ellipsoideus*. C. R. Soc. Biol., **104**, 1221 (1930).
- Langendorff H., Sommermeyer K., Strahlen wirkung auf *Drosophila* eier. V. Strahlentherapie, **68**, 656 (1940).
- Lea D. E., Catchside J. D. The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberration in *Tradescantia*. Journ. Genet., **44**, 216 (1942).
- Lyman J. T. Dark recovery of yeast following ionizing radiations. Ph. D. Thesis. University of California, 1965.
- Marcovitz E. Strahlenwirkung auf die Zellteilung. Arch. exptl. Zellforsch., **4**, 315 (1928).
- Matsumura S. Radiation genetics in wheat. VI. Biological effects of thermal and fast neutrons on diploid wheat. Japan T. Genet., **36**, 84 (1961).
- Matsumura S., Kondo S., Mabuchi T. Radiation genetics in wheat. VIII. The RBE of heavy particles from B^{10} (n; α) Li^7

- reaction for cytogenetic effects in einkorn wheat. *Radiat. Bot.*, **3**, 29 (1963).
- McCulloch E. A., Siminovitch L., Till J. E. Spleen — Colony Formation in Anemic of genotype WWv. *Science*, **144**, 844 (1964).
- McCulloch E. A., Till J. E. Repression of colony-forming ability of C57BL hematopoietic cells transplanted into non-isologous hosts. *J. Cellular Compar. Physiol.*, **61**, 301, 1963.
- McCulloch E. A., Till J. E. Proliferation of Hemopoietic Colony-Forming Cells Transplanted into irradiated mice. *Rad. Res.*, **22**, 383 (1964).
- Mortimer K., Brustad T. Mutation induction in *Saccharomyces* using radiation of different linear energy transfer (Abstract). *Radiat. Res.*, **12**, 458 (1960).
- Mortimer R. K., Brustad T., Cormack D. V. Effectiveness of ionizing radiations for induction of mutations and lethality in diploid *Saccharomyces cerevisiae*, in relation to ionization density and oxygen tension. In: Semiannual report biology and medicine, Donner laboratory and Donner pavilion. Berkeley, 1964, p. 35.
- Muller H. J. Artificial transmutation of the gene. *Science*, **66**, 84 (1927).
- Muller H. J. The problem of genic modification. *Verh. 5. Intern. Kongr. Suppl. Vererb.*, **1**, 234 (1928).
- Muller H. J. Radiation and genetics. *Amer. Naturalist* **64**, 220 (1930).
- Muller H. J. The effects of X-rays upon the hereditary material. *The Science of Radiology*. Springfield, 1934, p. 305.
- Muller H. J. The biological effects of radiations with special reference to mutation. *Rélih. Int. Physique, Chemie et Biologie*. Paris, 1937, p. 477.
- Murakami A., Kondos S. Relative biological effectiveness of 14 MeV neutrons to γ -rays for inducing mutations in silkworm gonia. *Japan J. Genet.*, **39**, 102 (1964).
- Murakami A., Kondo S. A., Tozima Y. Comparison of fission neutrons and γ -rays in respect to their efficiency in inducing mutations in silkworm gonia. *Japan J. Genet.*, **40**, 1965. (Int. no: Kondo, 1965).
- Nadson G. A., Philippov. Influence des rayons X sur la sexualité et la formation les mutantes chez les champignons inféri. *eurs. C. R. Soc. Biol. Paris*, **93**, 473 (1925).
- Novick A., Szilard L. Experiments on lightreactivation of ultraviolet inactivated bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **35**, 591 (1949).
- Oakberg E. F. The effects of dose rate and quality of radiation on the dynamics and survival of the spermatogonial population of the mouse. In: *Proc. Conf. Mechanisms of the dose rate effect of radiation at the genetic and cellular levels*. Oiso, 4—7 Nov., 1964. *Genet. Soc. Jap.*, 1965, p. 119.
- Oliver C. P. The effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutation. *Science*, **71**, 44 (1930).
- Oliver C. P. An analysis of the effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutations. *Z. indukt. Abst. u. vererb.-lehre*, **61**, 447 (1932).
- Oliver C. P. Radiation genetics. *Quart. Rev. Biol.*, **9** (1934).

- Packard C. The biological effectiveness of high voltage and low-voltage X-rays. *Amer. Journ. Cancer*, **16**, 1257 (1932).
- Pansch I. B., Panschina A. N., Peyrou P. P., 1945. Die Dosisabhängigkeit der röntgeninduzierten Chromosomenmutationen mit kleinen Bruchabständen bei *Drosophila melanogaster*. *Naturwiss.* (Zit. no: Timoféef-Resovsky N. W., Zimmer K. G., 1947).
- Pätau K., Timoféeff-Resovsky N. W. Die Genauigkeit der Bestimmung Spontaner und strahleninduzierter Mutation sraten nach der ClB-Kreuzungsmethode bei *Drosophila*. *Zsch. indukt. Abstamm.*, **81**, 181 (1943).
- Patterson J. T. Continuous versus interrupted irradiation and the rate of mutations in *Drosophila*. *Biol. Bull. Mar. biol. Lab. Wood's Hole*, **61**, 133 (1931).
- Pickhan A. Vergleich der mutationsauslösungen Wirkung von gleichen Dosen Röntgen- und Radium-strahlen. *Strahlenther.*, **52**, 369 (1935).
- Powers E. L. Considerations of survial curves and target theory. *Physics in Medicine and Biology*, **7**, 3 (1962).
- Powers E. L., Boag J. W. The role of dose rate and oxygen tension in the oxygen effect in dry bacterial spores. *Radiat. Res.*, **11**, 461 (1959).
- Purdom C. E. Genetic Effects of Radiation. London, George Newness, 1963.
- Quastler H. Radiation effects in vivo: Molecular aspects of mammalian radiobiology. In: *Bioenergetics. Radiat. Res., Suppl.* **2**, 627 (1960).
- Ralston H. I. The immediate and delayed action of X-rays upon the protozoan *Dunaliella salina*. *Amer. J. Cancer*, **37**, 288 (1939).
- Revell S. H. A new hypothesis for «chromatid» changes. In: *Radio-biology Symposium, Liège, 1954, Butterworts scientific Publ., London, 1955*, p. 243.
- Riehl N. R., Rompe, N. W., Timoféef-Resovsky, K. G., Zimmer. Über Energiewanderungs-vorgänge und ihre Bedeutung für einige biologische Prozesse. *Protoplasma*, **38**, 105 (1943).
- Riehl N., Timofeef-Resovsky N. W., Zimmer K. G. Mechanismus der Wirkung ionisierender Strahlen auf biologische Elementarheiten. *Naturwiss.*, **29**, 625 (1941).
- Rupert C. S., Harm W. Reactivation after photobiological damage. In: *Advances in Radiation Biology*, v. 2. Acad. Press Inc., New York, 1966, p. 1.
- Russell L. B. X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological pattens. *J. Exptl. Zool.*, **114**, 545 (1950).
- Sax K. An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Jour. Genet.*, **25**, 41 (1940).
- Sinclair W. K. X-Ray-Induced Heritable Damage (Small-Colony Formation) in Cultured Mammalian Cells. *Rad. Res.*, **21**, 584, 1964.
- Sparrow A. H. Comparisons of the tolerances of higher plant species to acute and chronic exposures of ionizing radiation. In: *Proc. Conf. Mechanisms of the dose rate effect of radiation at the genetic and cellular level. Oiso, Nov. 4—7, 1964. The Genetic Soc. Japan, 1965*, p. 12.

- Stapleton G. E., Hollaender A., Martin F. L., 1951. Mechanism of lethal and mutagenic action of ionizing radiations on *Aspergillus terreus*. I. Relation of relative biological efficiency to ion density. *J. Cellular. Compar. Physiol.*, **39**, Suppl. I, 87 (1951).
- Strangeways T. S. P., Oakley H. E. H. The immediate changes observed in tissue cells after exposure to X-rays while growing in vitro. *Proc. Roy. Soc.*, **B95**, 373 (1923).
- Stubbe H. Spontane und strahleninduzierte Mutabilität. Leipzig, 1937.
- Stubbe H. Genmutation. Berlin, Handbuch Vererbgswiss., **23** (1938).
- Thoday J. M. The target theory and physiological variation. *Heredity* **6**, Suppl., 299 (1953).
- Thoday J. M., Read L. Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-rays. *Nature*, **160**, 608 (1947).
- Till J. E., McCulloch E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cell. *Rad. Res.*, **14**, 213 (1961).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Der Stand der Erzeugung von Genovariationen durch Röntgenbestrahlung. *Journ. Psychol. u. Neur.*, **39**, 432 (1929).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Die bisherigen Ergebnisse der Strahlengenetik. *Erg. d. Medizin. Strahlenforsch.*, **5**, 130 (1931).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Mutations of the gene in different directions. *Proc. 6 Internat. Congr. Genet.*, Ithaca, **1**, 308 (1932).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. The experimental production of mutations. *Biol. Rev. Cambridge philos. Soc.*, **9**, 411 (1934).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Leipzig u. Dresden, 1937.
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Zur Frage über einen «direkten» oder «indirekten» Einfluss der Bestrahlung auf den Mutationsvorgang. *Biol. Zbl.* **57**, 233 (1937).
- Timoféeff-Ressovsky N. W. Eine biophysikalische Analyse des Mutationsvorganges. *Nova Acta Leopoldin (Halle)*, **9**, 60 (1940).
- Timoféeff-Ressovsky N. W., Delbrück M., Strahlengenetische Versuche über die Mutabilität einzelner Gene bei *Drosophila melanogaster*. *Zsch. Abstamm.*, **71**, 322 (1936).
- Timoféeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. Strahlengenetische Zeitfaktorversuche an *Drosophila melanogaster*. *Strahlenther.*, **53**, 134 (1935).
- Timoféeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. Strahlengenetik. *Stralnther.* **66**, 684 (1939).
- Timoféeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. Biophysik Bd. I. Das Trefferprinzip in der Biologie. S. Hirzel. Verlag, Leipzig, 1947.
- Tobias C. A., Mortimer R. K., Gunther R. L., Welch G. P. The action of penetrating radiations on yeast cells. In: 2nd UN Geneva. Conf., Pergamon Press, London, 1958, section D-10, p. 420.
- Tobias C. A., Todd P. W. Analysis of the effects of High-LET radiations on various Biological test objects. In: Semiannual report

- biology and medicine, Donner Laboratory and Donner pavilion, Berkeley, 1964, p. 25.
- Tolmach L. J. Growth patterns in X-irradiated HeLa cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **95**, 743 (1961).
- Vos O., Kaalen M. C. A. C. Protection of tissue-culture cells against ionizing radiation. II. The activity of hypoxia, dimethyl sulphoxide, dimethyl sulphone, glycerol and cysteamine at room temperature and at -196°C . *Internat. J. Radiat. Biol.*, **5**, 609 (1962).
- Whitmore G. F., Till J. E. Quantitation of Cellular radiobiological responses. *Ann. Rev. Nuclear Sci.*, **14**, 374 (1964).
- Wolff S. Mechanisms of dose-rate effects: Insight obtained from intensity and fractionation studies on chromosome aberration induction. In: Proceedings of the conference on mechanisms of the dose rate effect of radiation at the genetic and cellular levels. Oiso, 4-7 Nov. 1964, Genet. Soc. Jap., 1965.
- Wood T. H. Influence of temperature and phase state on X-ray sensitivity of yeast. *Arch. Biochem. Biophys.*, **52**, 157 (1954).
- Wood T. H., Rosenberg A. M. Freezing in yeast cells. *Biochim. et Biophys. Acta*, **25**, 78 (1957).
- Wyckoff R. W. G. The irradiation of microorganisms. *Acta Internat. Union against Cancer*, **4**, 231 (1939).
- Wyckoff R. W. G., Luyet B. J. The effect of X-rays, cathode and ultra-violet rays on yeast. *Radiology*, **17**, 1171 (1931).
- Zimmer R. G. Statistische Ultramikrometrie mit Röntgen, Alpha- und Neutronenstrahlung. *Physikal. Zsch.*, **44**, 233 (1943).
- Zimmer K. G., Timofëeff-Ressovsky N. W. Über einige physikalische Vorgänge bei der Auslösung von Genmutationen durch Strahlung. *Zsch. Vererb.*, **80**, 353 (1942).

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. РАЗВИТИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ РАДИОБИОЛОГИИ И ПЕРВЫЕ ФОРМУЛИРОВКИ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ	8
ГЛАВА 2. НЕКОТОРЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ В РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКЕ	23
1. Основные сведения о наследственности и мутационном процессе	23
2. Основные положения радиационной генетики	30
3. Биофизический анализ мутационного процесса	34
4. Заключительные замечания	64
ГЛАВА 3. ОБЩАЯ ФОРМУЛИРОВКА ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ И СВЯЗАННЫХ С НИМ ПОНЯТИЙ	65
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ СОПУТСТВУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК	79
1. Вводные замечания	79
2. Влияние температуры	88
3. Влияние кислорода	93
4. Влияние радиозащитных веществ	96
5. Влияние биологических факторов	98
6. Заключительные замечания	102
ГЛАВА 5. ПРИНЦИП ПОПАДАНИЯ И ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК	104
1. Вводные замечания	104
2. Предпосылки интерпретации явлений восстановления с позиций принципа попадания	108
3. Фотореактивация дрожжей	114
4. Темновое восстановление дрожжей	120
5. Условие пострadiационного культивирования и восстановление дрожжей	123
6. Пострадиационное восстановление поврежденных хромосом	131
7. Модифицирующее влияние фактора времени	138
8. Заключительные замечания	144

ГЛАВА 6. ЛЕТАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ НА КЛЕТКИ .	146
1. Предварительные замечания	146
2. Кумулятивные эффекты облучения	150
3. Формы и возможные причины лучевой гибели клеток	154
4. Заключительные замечания	182
ГЛАВА 7. КОМПЛЕКСНЫЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ	185
1. Избранные примеры комплексных радиобиологических реакций	185
2. «Узкие места», тканевая регенерация и физиологические корреляции у многоклеточных организмов	197
3. Подход к анализу комплексных радиобиологических реакций с позиций принципов попадания и мишени	204
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	209
ЛИТЕРАТУРА	214

60659



Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский,
Владимир Ильич Иванов,
Владимир Иванович Корогодин

ПРИМЕНЕНИЕ ПРИНЦИПА ПОПАДАНИЯ В РАДИОБИОЛОГИИ

Редактор Т. А. Солдатенкова
Художественный редактор А. С. Александров
Технический редактор В. И. Фирсова
Корректор З. А. Авдюшева

Сдано в набор 1/XII 1967 г.
Подписано в печать 22/II 1968 г. Т-00486
Бумага 84×108¹/₃₂, типографская № 2
Усл. печ. л. 11,97 Уч.-изд. л. 12,15 Тираж 2 000 экз.

Заказ изд. 1575 Цена 1 р. 12 к. Заказ тип. 811
Атомиздат, Москва, К-31, ул. Жданова, 5/7
Московская типография № 6 Главполиграфпрома
Комитета по печати при Совете Министров СССР
Москва, Ж-88, 1-й Южно-портовый пр., 17.

