

ԵՐԵՎԱՆԻ ՖԻԶԻԿԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ
ЕРЕВАНСКИЙ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
YEREVAN PHYSICS INSTITUTE



**МАТЕРИАЛЫ II МЕЖДУНАРОДНОГО
СИМПОЗИУМА ПО ПЕРВИЧНЫМ
И НАЧАЛЬНЫМ МЕХАНИЗМАМ
БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА КЛЕТКУ**

Издательство АН Арм. ССР

ЕРЕВАН - 1989

© Издательство АН Арм. ССР

"В науке нет ничего хуже звериной серьезности, с которой разные авторы и разные лаборатории цапаются, забыв о том, что все они очень и очень далеки от действительного понимания интимных механизмов, управляющих процессами, ведущие какие-то более или менее примитивные наблюдения конечной реакции. Поэтому нужно культивировать разные точки зрения, но не нужно проявлять звериной серьезности и отсутствия юмора прежде всего самим себе".

Н.В.Тимофеев-Ресовский

Вместо предисловия

В 1968 году с 28 октября по 4 ноября в Ереванском физическом институте состоялся II Международный симпозиум по первичным и начальным процессам биологического действия ионизирующей радиации с участием ведущих специалистов-радиобиологов. Материалы этого симпозиума были опубликованы сперва в Берлине в журнале "Студия биофизика" (№15/16, 1969), затем на русском языке в издательстве "Наука" (1972 г.). Однако в обоих этих изданиях не отражено, на наш взгляд, самое интересное - это обсуждение докладов, где раскрываются механизмы радиочувствительности биологических объектов и дана оценка "принципа мишени".

Прошло более 20 лет, однако интерес к этой дискуссии не только не угас, а стал еще более актуальным для радиобиологов. Мы всемерно старались воспроизвести выступления участников таким образом, чтобы сохранить оригинал стенограммы.

Ц.М. Авакян

В.И. Корогодин

Май 1989 г.

Ереван

Список специалистов, присутствующих во время
дискуссии

- | | |
|---------------------|-----------------------|
| 1. Абагян Г.В. | 27. Зотиков А.А. |
| 2. Авакян Ц.М. | 28. Иванов В.И. |
| 3. Аграненко В.А. | 29. Кальний В.С. |
| 4. Акоев И.Г. | 30. Камалян Л.А. |
| 5. Арутюнян Р.А. | 31. Керкис Ю.Я. |
| 6. Атаян Р.Р. | 32. Константинова М.М |
| 7. Балмуханов С.Б. | 33. Кондратенко В.Г. |
| 8. Барадков А. | 34. Копылов В.А. |
| 9. Баракина Н.Ф. | 35. Корогодин В.И. |
| 10. Барсуков В.С. | 36. Корогодина Ю.В. |
| 11. Брегадзе И.Ф. | 37. Кочережкин В. |
| 12. Бурлакова Е.Б. | 38. Критский Г.А. |
| 13. Бурлакова Е.В. | 39. Круглова Г.Ф. |
| 14. Вальнштейн Э.А. | 40. Круглякова К.Е. |
| 15. Волкова М.С. | 41. Кудряшов Ю.Б. |
| 16. Гальцова Р.Д. | 42. Кузин А.М. |
| 17. Ганасса Е.Э. | 43. Львов К.М. |
| 18. Гончаренко Е.А. | 44. Малиновский О.В. |
| 19. Граевский Э.Я. | 45. Мантейфель В.М. |
| 20. Григорьев Ю.Г. | 46. Медведева Г.А. |
| 21. Джавадян Н.С. | 47. Минаев П.Ф. |
| 22. Джаракьян Т.К. | 48. Мовсесян М.А. |
| 23. Довлатян С. | 49. Мясник М.Н. |
| 24. Еманов Л.Ф. | 50. Некрасова И.В. |
| 25. Жариков Н.Т. | 51. Нор-Аревян Н.Г. |
| 26. Жестяников В.Д. | 52. Оганджянян Э.Е. |

53. Павловская Т.Е.
54. Паносян Г.В.
55. Парибок В.Л.
56. Пархоменко И.К.
57. Пелевина И.Н.
58. Писаревский А.А.
59. Тер-Погосян Р.А.
60. Помощникова Н.А.
61. Порядкова Н.А.
62. Пулатова Л.К.
63. Ремезова Т.С.
64. Романцев Е.Ф.
65. Рябченко Н.И.
66. Савич В.А.
67. Свердлов А.Г.
68. Семенов Л.М.
69. Семерджян С.П.
70. Спитковский Д.Н.
71. Стражевская Н.Б.
72. Стрижевский А.
73. Стручков В.А.
74. Суйкова Л.А.
75. Тарасенко А.Г.
76. Тарусов Б.Н.
77. Тимофеев-Ресовский Н.В.
78. Тимофеева-Ресовская Е.А.
79. Токарская В.И.
80. Тонгур А.М.
81. Уманский С.Р.
82. Федорова Т.А.
83. Филенко О.Ф.
84. Фрадкин Г.Е.
85. Хамидов Д.Х.
86. Хейфиц Ю.Д.
87. Цейтлин П.И.
88. Черкасова Л.С.
89. Чумак М.Г.
90. Шальнов М.И.
91. Шапиро И.М.
92. Шейкина Т.А.
93. Шехтман Я.Л.
94. Эйдус Л.Х.
95. Ярмоненко С.П.
96. Данцевич (Польша)
97. Мальц В. (ГДР)
98. Мак Квин-Виллиамс М. (США)
99. Модиг Х. (Швеция)
100. Нинкова Я. (Югославия)
101. Раков А. (ГДР)
102. Ревес Л. (Швеция)
103. Сигахара Т. (Япония)
104. Силини Дж. (Италия)
105. Сингх В. (Индия)
106. Тодоров С. (Болгария)
107. Хаген И. (ФРГ)
108. Шварц К. (ГДР)

А.М. КУЗИН (вступительное слово)

С развитием представлений о молекулярной природе сложных систем, которые передают информацию от ДНК к работающим органеллам клетки, возросли наши знания об обратных связях, которые существуют между цитоплазмой и ядром клетки, тех связях, которые регулируют размножение клеток, дифференциацию клеток, а также чрезвычайно возросли наши представления о роли внутриклеточных мембран в регуляции жизненных процессов. Мы уже многое знаем о влиянии радиации на изменение биохимического состава, структуры и функции этих важных клеточных органелл. Я думаю, что в мою задачу не входит перечислять все те большие успехи, которые мы имели за эти прошедшие восемь лет. И одной из важных задач нашего симпозиума будет как-то подвести итог этим достижениям.

Мне хотелось бы только подчеркнуть, что если совершенно очевидно все значение вопросов, поставленных сегодня нами на повестку дня для развития теоретической радиобиологии, то хотелось бы подчеркнуть, что не меньшее значение эти вопросы имеют для практики. Мы хорошо с вами знаем, что медицина широко использует ионизирующую радиацию для лечения злокачественных новообразований, для изменения иммунологических ответов организма при трансплантации тканей и органов, и несомненно, что дальнейший успех, прогресс в этой области теснейшим образом связан с прогрессом наших знаний о первичных изменениях в облученной клетке. Вопросы профилактики и терапии лучевой болезни злободневные вопросы, которые также требуют конкретных знаний о тех интимных механизмах, с которых начинается развитие лучевой болезни. Все расширяется использование ионизирующей радиации для стерилизации, для консервирования, для получения радиа-

ционных мутантов с целью выведения новых сортов сельскохозяйственных растений, при использовании радиации для повышения урожая методом предпосевного облучения семян и в целом ряде других практических областях. Для всего этого чрезвычайно важно знать, как формируется конечный радиационный эффект, а для этого надо иметь отчетливое представление о первичных и начальных процессах, возникающих в облученной клетке, т.е. как раз о тех вопросах, которым посвящен наш симпозиум. Правительство Армении и Ереванский физический институт сделали все, чтобы обеспечить благотворную работу нашего симпозиума. Я хотел бы от имени всех присутствующих выразить им глубокую благодарность за это, а также за ту большую организационную работу, которую они провели, подготавливая наш сегодняшний симпозиум. Открывая II-ой Международный симпозиум по первичным и начальным механизмам действия ионизирующей радиации на клетку, я бы хотел попросить нашего гостя из Швеции доктора Ревеса взять на себя труд председательствовать на сегодняшнем утреннем заседании.

Дискуссии после каждого заседания29/X-68 (вечернее заседание)

Т.Е. Павловская - В своем докладе А.М. Кузин подчеркнул вопрос о значительной роли липидных радиотоксинов в нарушении регуляции биохимических процессов клетки, в частности, вследствие изменения свойств внутриклеточных мембран, в первую очередь их проницаемости. Успехи современной молекулярной биологии в изучении структуры и функции клеточных мембран создадут основу для экспериментального исследования вклада прямого и непрямого радиационного поражения в радиобиологический эффект. Однако, все эти вопросы еще мало исследуются.

Я хотела бы рассказать очень коротко о некоторых результатах, которые получены в лаборатории радиационной биохимии Института биохимии им.Баха. В свое время роль радиационного поражения тонких клеточных поверхностей разделов для развития радиобиологического эффекта обосновывал в своих работах А.И. Пасынский. Отмечалось, что учет именно этого фактора позволяет выявить связь радиационных поражений с нарушением обмена веществ клетки и сложной гетерогенностью, которая характерна для внутреннего строения клетки. При этом подчеркивалось, что одним из основных эффектов, который возникает вследствие повреждения тонких поверхностей раздела, является изменение условий взаимодействия ферментов и субстрата.

В модельных опытах нами изучается влияние радиационных изменений поверхностных свойств биополимеров, образующих монослойные барьеры, на проницаемость этих барьеров, о чем можно судить по изменению скорости взаимодействия через эти барьеры

фермента и субстрата. Наблюдаемый эффект объясняется радиационно-структурными изменениями биополимеров на поверхности раздела. На суспензии изолированных клеточных ядер исследуется влияние облучения на скорость взаимодействия фермента и субстрата, разделенных ядерной мембраной. Эта система является дальнейшей, более усложненной моделью. В этом случае устанавливается связь наблюдаемого эффекта с инактивацией некоторых ферментных систем, связанных с мембраной. В модельных опытах с монослоями ДНП было показано, что достаточно дозы ультрафиолетового излучения в $2 \cdot 10^5$ эрг/см² для заметного увеличения скорости диффузионной стадии ферментативных процессов, протекающих через эти монослои. Увеличение скорости составляло 30%. Доза в $1,2 \cdot 10^7$ эрг/см² снимает барьерный эффект ДНП на 60% и приближает скорость ферментативной реакции к скорости, характеризующейся свободной диффузией ферментов в субстрате. Действие рентгеновских лучей на монослой ДНП повышает их проницаемость при условной дозе в 2 кр на 40%, а в 5 кр полностью снимает барьерный эффект. Аналогичные данные, но с большей величиной эффекта, были получены при облучении ультрафиолетовыми лучами монослоев природного липопропейда и липовителина. В этом случае доза в $1,2 \cdot 10^7$ эрг/см² полностью снимала барьерный эффект монослоя, обеспечивая свободную диффузию фермента к субстрату.

Параллельно с изучением нарушения проницаемости облученных монослоев исследовалось изменение поверхностных свойств указанных нуклео- и липопропейдов при тех же условиях воздействия излучения. Во всех случаях наблюдалось увеличение поверхностного давления, что было связано с увеличением площади моносло-

ев, что мы объясняем радиационно-структурными изменениями нуклео- и липопротеидов. В случае действия излучения на тонкие слои ДНП не может быть появления поперечных связей между отдельными полинуклеотидными цепями. В случае липопротеидов увеличение поверхности может быть результатом дополнительного разворачивания молекул на поверхности под воздействием излучения.

Второй моделью исследования, как упоминалось выше, служили суспензии изолированных ядер тимуса крыс. Основным эффектом заключался в том, что облучение рентгеновскими лучами приводило к усилению взаимодействия фермента и субстрата для системы неорганической пирофосфатазы. При дозе в 50 кр эффект усиления взаимодействия внутриядерной пирофосфатазы с внешним субстратом усиливался на 40%. По-видимому, ускорение реакции было следствием повреждения ядерной мембраны. При этом электронно-микроскопические исследования показали разрыхление ядерной мембраны. Наряду с усилением пирофосфатазной активности наблюдался обратный эффект - угнетение АТФ-азной активности. Литературные данные о локализации АТФ-азной активности в порах ядерной мембраны, а также обнаружение АТФ-азы в изолированных ядерных мембранах, позволяют предположить, что данная АТФ-аза имеет отношение к регуляции обмена веществ между ядром и цитоплазмой. Поэтому дальнейшие исследования были направлены на установление радиочувствительности АТФазы ядер, состоящей из ядерной оболочки и кислых белков. В этом случае АТФаза оказалась более радиочувствительной по сравнению с радиочувствительностью АТФазы исходных ядер. Инактивация наблюдалась сразу после облучения при более низких дозах, уже при 10 кр. Даль-

нейшее изучение этих вопросов представляет интерес с точки зрения выяснения детального механизма влияния этих повреждений на изменение проницаемости мембран и нарушение уникальных биохимических процессов в клетках.

30/Х - утреннее заседание

В.И. КОРОГОДИН - Я с большим удовольствием выслушал доклад проф. Селини, потому что мы также интересовались этим же - вопросом о сопоставлении радиочувствительности стволовых клеток и целостного организма. И мы тоже исходили из литературных данных многих авторов, что радиочувствительность стволовых клеток при облучении *in situ, in vivo, in vitro* практически одинакова.

Мы так сформулировали наш вопрос: какой процент стволовых клеток костного мозга должен выжить, чтобы обеспечить выживаемость животных при полудетальной дозе. На этот вопрос можно ответить, сопоставляя три группы независимых опытов.

Данные по двум группам опытов есть в литературе. Это - опыты по костно-мозговой терапии и опыты по экранированию участков костного мозга с определением количества содержащихся там клеток. Этих данных много в литературе. Когда их корректно обработать, то получается следующее. По этим двум группам опытов вывод такой: достаточно ввести в облученный организм 0,1%-0,4% от имеющихся у него костно-мозговых клеток, чтобы он выжил при полудетальной дозе. Или достаточно заэкранировать такой объем костно-мозговой ткани, чтобы там было 0,1-0,4% костно-мозговых клеток, и животные выживают.

Третья группа опытов - это опыты по сопоставлению кривых

выживания стволовых клеток и кривых выживания этих же животных. Мы определяли кривые выживания стволовых клеток и животных в одних и тех же опытах, облучая стволовые клетки *in vivo*. Кривая выживания стволовых клеток, как и следовало ожидать, такая же, как в литературе: D_0 - около 100 р, экстраполяционное число - около 2. И если наложить эти две кривые одну на другую, то получается, что 50% поражения животных соответствует выживаемости 0,1% стволовых клеток.

Таким образом, из сопоставления всех трех групп экспериментов мы получаем одну и ту же примерно цифру, одного и того же порядка. Из этого следует два вывода. Первый вывод, как и у доктора Селини, что костно-мозговой синдром обусловлен, в основном, повреждением стволовых клеток, потому что процент выживаемости стволовых клеток и процент костного мозга, защищающего при костно-мозговой терапии, - величины одного и того же порядка. Второй вывод, что при дозах, когда гибель связана с костно-мозговым синдромом, никакие внеклеточные радиотоксины не влияют на поражаемость стволовых клеток, потому что одна и та же величина получается, вводим ли мы необлученный костный мозг или мы экранируем костный мозг в организме, или сопоставляем кривые выживания.

С.П. ЯРМОНЕНКО - Я хотел бы выступить в связи с двумя докладами: доктора Селини и доктора Эйдуса, а также в связи с выступлением Владимира Ивановича.

Действительно, мы сегодня были свидетелями очень убедительных экспериментов, в которых показана роль стволовых клеток в выживании животных в диапазоне костно-мозговой гибели.

Хорошо подтверждаются имеющиеся литературные данные и сегодня демонстрировавшиеся новые эксперименты в этом отношении. Я хотел бы обратить внимание на одно обстоятельство, что с неизбежностью можно прийти к одному заключению, что гуморальные факторы, как их называет Л.Х.Эйдус, тоже играют существенную роль в непосредственных процессах опустошения костного мозга. Учитывая последнее замечание В.И. Корогодина, где он привел данные, что всего 0,1% стволовых клеток нужно для выживания облученного животного, мы тем не менее располагаем данными о том, что при экранировании 40% костного мозга, когда 60% его подвергается действию облучения, мы наблюдаем частичную гибель, — правда, при достаточно больших дозах, — но наблюдаем гибель в сроки, совпадающие с костно-мозговым синдромом, а по данным Эйдуса, которые он приводил, вы видели, что дистанционный эффект существенно разный. Характерно, что для эритробластов, кстати говоря, наблюдается интерфазная гибель в экранированной конечности. Сопоставление всех этих трех данных наводит на мысль о том, что не исключено, что в условиях такого рода облучения и получения больших суммарных доз, в условиях неравномерного облучения, когда остается формально значительно большее количество кроветворных клеток, чем казалось бы нужным, может наступать гибель от того, что эти 0,1% стволовых клеток погибает не благодаря непосредственному облучению, а дистанционным путем. Наверное, существует форма экспериментов, где, надеюсь, это скоро можно будет показать. Но сам по себе этот факт заслуживает существенного внимания — факт о существенной роли дистанционных влияний в условиях неравномерного облучения.

В.Д.ЖЕСТЯНИКОВ - В.И.Корогодин сказал, что различие в радиорезистентности штаммов $E. coli$ V/s_1 , V и V/r при действии ультрафиолетовых и рентгеновых лучей можно объяснить, пренебрегая гипотезой репарации лучевых повреждений. Если это так, то очень трудно сопоставить фактический материал о молекулярных механизмах репарации повреждений, вызванных ультрафиолетовыми и рентгеновыми лучами.

Очень схематично механизм репарации повреждений, вызванных ультрафиолетом, сводится к следующему. Образовавшийся димер выщепляется вследствие действия соответствующих ферментов, затем образовавшийся одиночный разрыв расширяется вследствие деградации ДНК, а затем этот пробел заполняется и восстанавливается нормальная структура ДНК. Штаммы бактерий, не имеющие ферментов выщепления - это штамм V/s , в частности, - оказываются высокочувствительными к действию ультрафиолета. Штаммы бактерий, которые способны удалить димеры, - это V/r , - и восстанавливать нормальную структуру ДНК, оказываются резистентными к действию ультрафиолетовых лучей. При действии редкоизирующих излучений, - речь идет только о действии рентгеновых лучей, а не α -частиц, - первого этапа повреждения, образования димера, естественно, нет. Но зато при действии рентгеновых лучей образуется одиночный разрыв, и дальше репарация идет по тому же механизму. Штаммы, которые не способны выщеплять димеры, оказываются высокочувствительными к ультрафиолету, - это штаммы типа V/s_1 . Но штаммы, которые способны дальше репарировать повреждения, вызванные рентгеновскими лучами, оказываются устойчивыми к ним. Так, один из наших штаммов действительно является чувствительным к ультрафиолету, но устой-

чивым к рентгеновым лучам. Этот факт не объясним никак иначе, если пренебречь гипотезой восстановления. Он хорошо согласуется с представлением о репарации лучевых повреждений.

Я вынужден опустить очень большое количество фактов, которые могут быть кратко резюмированы следующим положением. Радиочувствительными являются все те штаммы, которые в той или иной мере дефектны по системе репарации лучевых повреждений, по механизму исправления дефектов ДНК.

Однако, у некоторых штаммов повреждение может проявляться не только в том, что образуется дефект ДНК, но также и в повреждении каких-то иных механизмов, в частности, механизма клеточного деления. В этом случае в результате повреждения образуются филоменты, что и вызывает гибель бактерий штамма В. Этот случай может быть объяснен с позиций, которые представил в докладе В.И.Корогодин, т.е. не репарацией повреждений, а особой формой проявления этих повреждений, связанной с образованием филоментов. Лучше всего это демонстрировать, - и эту точку зрения отстаивает Владимир Иванович, если я хорошо его понял, - тем, что в тех пострадиационных условиях, когда образуются филоменты, - сейчас речь идет о штамме В, - гибель будет более сильная, чем в тех пострадиационных условиях, когда филоменты не образуются. При 45°C филоменты не образуются. При 19°C их образуется очень много, при 37°C филоменты также образуются. Однако пострадиационная гибель при 37°C может сильно варьировать. В одних случаях она оказывается близкой к 19°C, в других случаях она совпадает с 45°C. При 37°C, когда образуются фило-

менты, выживаемость оказывается такой же, как при 45°C, когда эта форма гибели не проявляется, когда филоменты не образуются. Этот факт противоречит гипотезе, объясняющей пострадиационную гибель разной формой проявления лучевых повреждений.

Очень много фактов позволяет говорить, что описывающие лучевую инактивацию клеток кривые "доза-эффект" могут быть в значительно лучшей степени объяснены, исходя из многочисленных данных, указывающих на репарацию лучевых повреждений у радиорезистентных штаммов, а не на основании разных форм проявления повреждений. Гибель, например, у штамма В. посредством образования филоментов указывает на повреждения еще одного механизма, механизма клеточного деления, который также может быть репарирован. Механизм репарации клеточного деления и механизм репарации, исправления, дефектов ДНК могут быть независимыми но они могут частично перекрываться, и большая часть фактов позволяет отстаивать эту последнюю точку зрения.

О. В. МАЛИНОВСКИЙ - Я хотел сказать несколько слов по поводу доклада доктора Эйдуса. Докладчик утверждает, что мы можем создать такую простую модель образования хромосомных перестроек или иных радиационных повреждений, при которых в клетке, или в клеточном ядре, образуются одиночные повреждения, линейно связанные с дозой. Они образуются в пространстве статистически, в соответствии с распределением прохода ионизирующих частиц. Докладчик утверждает, что, если во время реализации одиночные повреждения образуют некоторые пары, а результатом взаимодействия двух одиночных повреждений является двуударная хромосомная перестройка, то без всякого восстановления, если

у нас будет изменяться время взаимодействия, или реализации, то общее число перестроек будет меньше.

Это не больше, не меньше, как простая логическая ошибка. Дело в том, что если при действии первой или второй фракции дозы мы получаем некоторую сумму одиночных повреждений, то, совершенно независимо от времени фракционирования, мы всегда будем получать одно и то же число этих двухударных перестроек. Можно привести целый ряд математических моделей. Существуют строгие участки взаимодействия, типа сайтов по Вольфу, и можно представить себе, что эти повреждения могут нигилировать как угодно, но фракционирование здесь никак не будет работать. Общая сумма перестроек от времени фракционирования зависеть не будет.

Здесь надо обратить внимание на одну маленькую деталь. Очень часто повреждения зависят от квадрата дозы или почти от квадрата дозы, так как мы имеем дело с двуударными хромосомными перестройками. Дело в том, что если мы пишем, что число повреждений зависит от квадрата дозы, часто забываем о том, что квадрат сразу указывает на то, что только небольшая часть одиночных повреждений участвует в перестройках. Приведем пример. Допустим, у нас все одиночные повреждения участвуют в перестройках. Тогда совершенно ясно, что общее число перестроек будет равно числу одиночных повреждений, деленному на 2. Поскольку мы постулируем, что число одиночных повреждений от дозы зависит линейно, то совершенно ясно, что у нас будет наблюдаться линейная зависимость от дозы числа перестроек. Это происходит при действии плотно ионизирующих частиц. Так что, с самого начала, если вы имеете дело с каким-то квадратом

дозы, или с чем-то близким к квадрату, — это есть у Ли и написано во многих учебниках, — вы имеете обязательно дело с вероятностью, т.е. с небольшой долей одиночных повреждений, которые участвуют в перестройках.

Если вы хотите построить какую-то модель фракционирования, у вас часть одиночных повреждений должна куда-то уйти, — то ли это недореализация, недоповреждение, то ли восстановление, называть можно как угодно. Восстановление, т.е. выход из игры одиночных повреждений, — если речь идет о выживаемости клеток, мы называем их сублетальным повреждением, — время их восстановления, время их выхода, время их реализации, — это вещи, которые можно измерить экспериментально, показать, когда именно происходит эта реализация или это восстановление. Мы не могли доложить наши материалы на этом симпозиуме, но на дрожжевых клетках мы показали, что время реализации и время восстановления как раз совпадают. Это — процессы очень связанные, близки друг к другу.

В.И.КОРОГОДИН — Нужно очень четко различать факты и гипотезы, которые привлекаются для их объяснения. Восстановление сейчас модная гипотеза, ее часто слишком сильно увлекаются. Об этом свидетельствует хотя бы вот что.

Восстановление — это точка зрения, и наша задача выявить приложимость этой точки зрения к разным конкретным ситуациям. Я это покажу на примере. Выделение тиминового димера — это факт, а связь способности выделять димеры с радиочувствительностью — это точка зрения, это гипотеза, которая еще не доказана. Подробно развивать я это не могу, но проиллюстрирую одним маленьким примером. Рассмотрим, например, кривую выживаемости для бактерий штамма В, который способен выделять тиминового димеры после ультрафиолета, и поэтому предполагают, что он способен восстанавливаться и после ионизирующих излучений.

Если до облучения штамм В выращивать в одних условиях.

то его кривая выживания после облучения рентгеновскими лучами будет в большей степени зависеть от температуры культивирования, чем после α -лучей, и поэтому говорят, что после γ -лучей он восстанавливается, а α -лучи повреждают его репарационную систему. Если штамм В до облучения выращивать в других условиях, то после γ - и α -облучения его кривая выживания в совершенно одинаковой степени варьирует в зависимости от температуры пострадиационного культивирования. Наконец, можно четко показать не только нашими работами, но и другие авторы это показали, Альпер, в частности, что разница в выживаемости штамма В при разных условиях культивирования определяется разницей в выходе филоментов. Условия культивирования штамма В одинаково влияют на способность филоментообразования и контрольных, и облученных клеток. Только в облученных это сильнее выражено. Можно подобрать такие условия, когда после облучения и γ -лучами, и α -частицами бактерии штамма В будут более чувствительны, чем бактерии штамма В/5₁, который, как считают, не способен к восстановлению. Это воспроизводимые условия опытов. Мы получаем парадокс. Штамм, способный к восстановлению, более радиочувствителен, чем штамм, не способный к восстановлению. Это говорит по меньшей мере об одном, что помимо способности к восстановлению существует еще ряд факторов, влияющих на радиочувствительность. Эти факторы могут коррелировать со способностью к восстановлению, или работать независимо от способности к восстановлению, даже противоположно ей. Поэтому наша точка зрения сводится к тому, что сейчас дело не в том, чтобы провозглашать способность к восстановлению или объяснить ее все, а чтобы экспериментально, если это возможно, определять

удельный вес разных механизмов, обуславливающих радиочувствительность данных объектов в данных конкретных условиях.

Л.Х.ЭЙДУС - Нами было показано, как нам кажется, следующее. Можно показать непротиворечивым образом, при самых естественных предположениях, что кривая фракционирования, т.е. спад выхода перестроек при фракционировании дозы, будет объяснен и без допущения о восстановлении одиночных первичных повреждений, и без допущения о краткости их жизни, при бесконечном времени жизни одиночного поражения самого по себе.

В.П.ПАРИБОК - Гипотеза о роли репарации в радиорезистентности и, в частности, гипотеза о роли репарации в резистентности к ультрафиолетовому излучению, не является только мысленной схемой, а имеет настолько серьезное доказательство, что пренебрегать ей невозможно. Я хочу сослаться на следующие факты. Не только потому, что штаммы, способные выщеплять димеры пиримидиновых оснований, являются более резистентными к ультрафиолету, чем потерявшие эту способность, но и потому, что штаммы, способные выщеплять димеры пиримидиновых оснований, обладают способностью репарировать фаг, который, после облучения вне клетки, несет димеры, а клетки таких штаммов могут выщеплять у этого фага димеры пиримидиновых оснований и тем самым повышать его выживаемость, а также в связи с тем, что штаммы, способные ликвидировать одиночные разрывы ДНК, вызванные рентгеновским или γ -облучением, оказываются более резистентными к рентгеновскому излучению, чем штаммы, лишенные этих свойств. По этим и многим другим данным представление о том, что без репарации можно объяснить различия в ра-

диорезистентности, мне кажется, неправильным. Если кто-либо из присутствующих считает, что можно обойтись без репарации, это нужно обсудить здесь сейчас. Если разница в точках зрения состоит в том, что нужно принимать во внимание как репарацию, так и те формы гибели, на которых отражаются различия в штаммах, или различия в культивировании, и нужно принимать во внимание и то, и другое, то в этом смысле эта точка зрения мне кажется творческой, конструктивной. У меня есть просьба к Владимиру Ивановичу показать те данные, полученные с α -лучами, для того, чтобы выяснить, в чем наши точки зрения здесь расходятся.

В.Д. ЖЕСТЯНИКОВ - Мы будем опираться только на факты там, где есть факты, и будем строить корреляции там, где есть возможность строить корреляции. Когда создавалась схема исправлений дефектов ДНК при действии ультрафиолетовых и рентгеновых лучей, то эта схема создавалась на основании строгих фактов. Из того, что выщепление димеров является фактом, а высокая резистентность к рентгеновым лучам еще не следует из этого факта, - вот такая тенденция является неверной. В.П. Парбюк привел один факт, свидетельствующий в пользу того, что репарация дефектов ДНК при действии ультрафиолета связана с удалением димеров. Можно привести еще группу фактов. Они связаны прежде всего с данными о влиянии ингибиторов темновой репарации на этот процесс. Ингибиторы темновой репарации, кофеин и 5В₂-урацил, хотя каждый из них действует совершенно по-разному, все они приводят к тому, что подавляют в той или иной степени механизм исправлений дефектов ДНК, и при этом приводят

к увеличению чувствительности радиорезистентных штаммов, приближая ее к радиорезистентности чувствительных штаммов, и не изменяют резистентность именно чувствительных штаммов. В данном случае имеется очень хорошее количественное соответствие. Нужно учесть и факт выщепления, факт деградации, факт реконструкции ДНК с помощью определенных энзимов. Это факты, и фактами являются также изменения радиочувствительности в строгом соответствии с угнетением того или иного звена репарационной системы. После рентгеновых лучей нет первого звена репарационного механизма выщепления димеров, оно не нужно, но есть все последующие звенья. Есть образование одиночного разрыва, расширение пробела и реконструкция нативной структуры ДНК. Это является строгим фактом и находится в строгом количественном соответствии с дозой облучения. Но достаточно, например, привести данные Вильямса, который показал, что D_0 для штамма B/S_1 около 3 крад, и на эту среднюю летальную дозу приходится один одиночный разрыв. У штамма B/R образуется такое же количество одиночных разрывов в расчете на среднюю летальную дозу, но штамм B/R , в отличие от штамма B/S_1 , способен восстанавливать профиль седиментации ДНК в градиенте щелочной сахарозы, и это является неоспоримым доказательством способности радиорезистентного штамма восстанавливать структуру ДНК. Что касается, Владимир Иванович, ваших возражений или соображений по поводу разной способности давать разную резистентность в зависимости от условий культивирования, именно эти вещи я и приводил здесь. Может существовать репарация лучевых повреждений. Может быть, существуют разные формы гибели, и эти разные формы гибели могут каким-то образом накладывать отпечаток и, может быть,

в некоторых случаях определять ход дозовых кривых. Но являются ли они фактом, который дискриминирует идею восстановления, в этом я сильно сомневаюсь. Я полагаю, что одно другому может не мешать. И те случаи, которые вы иллюстрировали на бактериях, ни в коей мере не являются альтернативой, т.е. гипотеза дополнительного повреждения у штамма В не является исключавшей гипотезу восстановления.

В.И.КОРОГОДИН - Я хочу попросить не считать меня дискриминатором идеи восстановления. Десять лет назад я, пожалуй, в этой аудитории был бы если не один, то один из двух человек, кто говорил бы о восстановлении и приводил доказательства в его пользу. Я специально книгу посвятил восстановлению. Десять лет, если не больше, я занимаюсь восстановлением. На дрожжах восстановление количественно и формально лучше, чем на других объектах. Когда я писал и опубликовал два года назад книгу "Проблемы пострadiационного восстановления", там я тоже объяснял все случаи вариabильности радиочувствительности дрожжей различиями в восстановлении. А потом в моей же лаборатории Ю.Г.Капульцевич показал, что существует большая группа феноменов, где вариabильность радиочувствительности дрожжей не связана с восстановлением и идет независимо от него. Я эти данные приводил в Вене два года назад на Биофизическом конгрессе, видимо, они опубликованы в трудах этого конгресса. И тогда-то у нас возникло сомнение: все ли случаи вариabильности чувствительности связаны с восстановлением? Я продолжаю настаивать на том, что нам всегда нужно четко различать факты и их интерпретацию. Мне был задан вопрос по поводу бактерий

относительно вариабильности после α -облучения.

В.П.ПАРИБОК - Покажите по абсциссе дозы в радах при γ -лучах, как ложатся дозные кривые для штаммов, например, V/S_{α} и V/R

В.И.КОРОГОДИН - Вот дозы для γ -лучей, для рентгена и для α -лучей, кривые выживания строим для трех штаммов: V/S_{α} , V/S_{γ} и V . Причем, в принципе данные одинаковы, пересчитываем ли мы свои экспериментальные данные, или Хейнс приводил свой материал, довольно большой, у него получается то же самое, но для разной линейной потери энергии. По нашим данным получается следующее: положение кривых выживания после γ - и α -лучей для штаммов V и V/R зависит от тех условий, в которых их выращивать до облучения. Для штамма V/S_{α} не зависит, поэтому начнем со штамма V/S_{α} . Для V/S_{α} кривая выживания для γ -лучей идет так, а при α -облучении - так, т.е. по отношению к α -лучам штамм V/S_{α} резистентнее, чем по отношению к γ -лучам. Если исходить из гипотезы восстановления в примитивном ее смысле, можно было бы сказать, что V/S_{α} не восстанавливается после γ -, но восстанавливается после α -облучения. Анализ форм инактивации показывает, что в этом случае у клеток этого штамма меньше выход отдаленной инактивации, чем после γ -облучения. Эта форма инактивации почему-то меньше выражена, слабее. Мы сейчас анализируем математически эти явления. Для штамма V кривые выживания зависят от условий культивирования до и после облучения. Бывают такие варианты. При γ -облучении выживаемость, как правило, выше, чем у V/S_{α} , но можно, выращивая клетки до облучения так, чтобы в контроле был повышенный выход филоментов, получить кривую выживания у

штамма В ниже, чем у В/С₁. При α -облучении радиочувствительность штамма В и В/С₁ примерно одинаково низка и варьирует около положения, близкого к В/С₁, причем кривые для всех трех штаммов сблизились за счет подъема кривой для В/С₁. Эти данные находятся сейчас в печати. Для В/С₁ при γ - и α -облучении ситуация такая: близкая чувствительность после γ - и после α -лучей, если клетки В/С₁ выращивать до облучения на среде А, если же их выращивать на среде В, то кривые расходятся. Если выращивать на этих двух средах не до, а после α -облучения, наблюдается та же самая ситуация. В одних случаях кривые сближаются, В/С₁ становится несколько чувствительнее после α -, чем после γ -облучения, а в других случаях - расходятся. Теперь обращаю ваше внимание на то, что все эти варианты чувствительности были описаны разными авторами в разных работах. В лаборатории Холлендера, в основном, работали на разных вариантах В/С₁. Доктор Шехман получил различие в выживаемости штамма В/С₁ в зависимости от условий культивирования до облучения. С позиций гипотезы восстановления это значило бы, что восстановление клеток В/С₁ зависит от условий культивирования и от рода облучения. Иногда В/С₁ становятся чувствительнее, чем В/С₁. Получается настолько сложная ситуация, что ее трудно объяснить одной только гипотезой восстановления.

При ультрафиолете дело несколько проще. До сих пор считается, что признаком восстановления является повышение выживаемости клеток, если их обрабатывать чем-то после облучения. Можно взять клетки штамма В/С₁, не способного к восстановлению, облучить ультрафиолетом и получить обычную кривую. Но если этот штамм после облучения ультрафиолетом "выкупать" в

питательном бульоне, сделать то же, что когда-то делал Холлендер со штаммом В/р, то выживаемость повысится, фактор изменения эффективной дозы будет примерно около 2-3. Следовательно, мы получаем повышение выживаемости, или восстановление, после ультрафиолета у штамма, не способного к восстановлению после ультрафиолета.

Относительно выщепления тиминового димера. Там играет разница в выживаемости при одних и тех же дозах. В ряде случаев принятие гипотезы восстановления для объяснения всех вариаций в радиочувствительности затрудняет, а не облегчает работу. Здесь нет никаких споров, никаких дискуссий. Вопрос только в одном: строго ли воспроизведены факты и дано ли им более или менее достоверное объяснение на сегодняшний день, покамест мы не получили новых дополнительных фактов. Нужно строить рабочие гипотезы, которые будут совершенствоваться, помогать ставить новые опыты и все ближе приближать нас к пониманию сути дела.

Л.Х.ЭЙДУС - Вы сейчас говорили, что не надо всегда привлекать восстановление для объяснения изменения радиочувствительности. С этим никто, наверное, не спорит. Можете ли вы сказать, что есть какие-нибудь данные, которые, кроме как с участием понятия восстановления, нельзя объяснить, а восстановление прекрасно это объясняет? Можете ли вы сказать, что есть такие данные?

В.И. КОРОГОДИН - У диплоидных дрожжей, где у нас формальная сторона восстановления достаточно проанализирована. Если диплоидные дрожжи выращивать на средах, содержащих разные

концентрации питательного субстрата, то различие в выживаемости связано с восстановлением, по крайней мере, мы так думаем сейчас, покамест не получим данные, противоречащие этой гипотезе. Если те же дрожжи выращивать при разных температурах после облучения, то это, мы точно доказали, не связано с той формой восстановления, которая проявляется на питательной среде и в воде, т.е. в голодной среде.

Л.Х.ЭЙДУС - Вы согласны с тем, что эти данные иначе, как восстановлением, не могут быть объяснены? Или это тоже исключение, только для дрожжей?

В.И.КОРОГОДИН - Факты, которые приводил Владимир Давыдович, - а он приводил факты из литературы и из своих экспериментов. Я сейчас часть этих данных не берусь связывать с восстановлением, часть - допускаю, что это, может быть, и так, но, к сожалению, я не располагаю материалом, который позволил бы мне так, как ему, утверждать, что это строго доказано. Чтобы отвергнуть эту гипотезу, есть данные только по отношению к штамму В. Вариабильность в жизнеспособности клеток штамма В трактовалась как типичный пример восстановления. Сейчас очень хорошо показано, что различие в выживаемости штамма В при разных условиях культивирования после облучения обусловлено различием в выходе филоментов, а это, в свою очередь, связано с условиями культивирования клеток до облучения. Ген филоментообразования имеет экспрессивность с ярко выраженной зависимостью от условий культивирования. Частота его проявления и степень проявления определяется физиологическим состоянием штамма. Это можно проверить, изучая под микроскопом необлученные клетки, и получается, что можно подобрать условия на необлученных клетках так,

чтобы после облучения сильно варьировал выход филоментов. Это не зависит от восстановления, а обуславливается спецификой гена fis^+ . Я отнюдь не утверждаю и не думаю, что нет таких факторов, которые влияют на восстановление даже у этого штамма. Я просто говорю, что в тех условиях, с которыми мы работаем, это связано с филоментообразованием, генетически обусловленным признаком дефектности построения оболочки клетки. Конечно, может быть ряд других факторов, и у бактерий может быть восстановление, и я буду очень рад, если буду располагать строгими его доказательствами, а самое главное - возможностью количественной оценки его роли в общем эффекте облучения. Этот вопрос так же важен, как корректная количественная оценка роли радиотоксинов в лучевом поражении клеток. Вчера А.М.Кузин сказал, что роль радиотоксинов в лучевом поражении клеток достигает 50%. Было бы очень приятно, если бы была возможность услышать, каким образом, какие расчеты были проведены, позволившие так точно оценить вклад радиотоксинов в лучевом поражении клетки.

Э.А.ВАЛЬДШТЕЙН - Я думаю, что здесь все-таки спор идет не о том, как ставились опыты и как рассчитывались данные. Речь идет о том, какова роль пострадиационного восстановления в эффектах выживаемости, в эффектах мутагенеза, хотя мы их сегодня и не обсуждали. Я думаю, что это вопросы, которые волнуют всех радиобиологов, это отнюдь не частные вопросы.

Владимир Иванович привел свои данные, которые он получил на трех штаммах $E. coli$. Для скорости я нарисую только данные, касающиеся двух штаммов. Это - штамм В/С, чувствительный к рентгеновскому и γ -облучению, и штамм В/н, резистентный к

этим видам излучения. Насколько я поняла, Владимир Иванович здесь дает ту же дозовую шкалу, в одинаковых единицах облучения. По-видимому, в крадах. И он приводит здесь, опять-таки я беру только два штамма, для V/S_1 следующую кривую, а для штамма V/R кривая лежала несколько выше, или она может лежать близко к штамму V/S_1 , может лежать и выше, в зависимости от того, в каких условиях эти клетки выращивались до облучения. Дальше утверждается, что если облучать α -лучами, угол наклона кривой для штамма V/S_1 меньше, т.е. к этому виду облучения данный штамм более устойчив, и Владимир Иванович считает, что либо надо считать, что при рентгеновском облучении восстановления у данного штамма нет, а при α -есть, либо вся гипотеза о восстановлении вообще никуда не годится.

Но если говорить о большей резистентности штамма V/S_1 , то нельзя применять ту же шкалу доз. Дело в том, что биологическая эффективность α -облучения меньше, чем для γ -облучения. Хейнс очень хорошо показал, что если брать разную плотность ионизации, то с увеличением плотности ионизации у штамма V/R выживаемость снижается, а у штамма V/S_1 она не меняется. При чем при некоторой плотности ионизации эффективность излучения становится одинаковой. Хейнс и др. склонны эти данные рассматривать с точки зрения репарации, что у V/R при малой плотности ионизации идет репарация, у V/S_1 она не идет, что сейчас показано и на молекулярном уровне, а при большой плотности ионизации равная эффективность объясняется тем, что репарация исчезает и у штамма V/R .

30/X (вечернее заседание)

С.Б.БАЛМУХАНОВ - Вряд ли возможно объяснить такую сложную проблему радиочувствительности только содержанием или корреляцией с содержанием сульфгидрильных соединений. С точки зрения радиотерапии мы исследовали также содержание сульфгидрильных соединений в опухоли в различные дни роста, так как радиочувствительность опухоли подвержена значительным колебаниям в различные дни роста. Оказалось, что та же опухоль, известная асцитная опухоль Эрлиха, обычно растет периодически, циклично, а сульфгидрилы меняются в первые четыре дня: низкое содержание, потом к седьмому дню значительно выше, потом опять падает. Можно было подумать, что в эти сроки радиочувствительность опухоли также коррелирует с этими данными. Оказалось, что не так. Дело в том, что если на 4-ый день асцитная опухоль еще является кислородсодержащей, то позже, после 7-го дня, или к 9-му дню, эта опухоль становится полностью аноксической. Несмотря на высокое содержание сульфгидрилов, чувствительность остается на одинаковом уровне. Таким образом, один такой опыт показывает, что не всегда можно радиочувствительность непосредственно связывать с содержанием сульфгидрилов. Это можно также видеть по колебанию, по изменению содержания сульфгидрилов при облучении в эти дни пика колебаний высоких и низких значений SH-групп. Если облучать на 4-ый день, то через 24 часа или 48 часов - очень низкое содержание SH-групп, то же на 7-ой день, в то время как на 9-ый день такого низкого падения нет. Правда, при других обстоятельствах мы согласны с тем, что в опухолях с приобретенной радиорезистентностью, - в частности, мы получили

радиорезистентную сублинию асцитной опухоли Эрлиха, - там имеется прямая корреляция между содержанием сульфгидрилов и радиорезистентностью. При облучении двух сублиний, резистентной и исходной, через 72 часа мы видим у исходной такой уровень, а у радиоустойчивой - более высокое содержание сульфгидрилов. Следовательно, если здесь коррелирует радиочувствительность с содержанием SH-групп, то в предыдущем случае мы этого не наблюдали. Оказалось, что радиорезистентная опухоль, полученная путем длительного облучения, сохраняет такую способность. При трансплантации в предварительно облученную опухоль, - контрольная и предварительно облученная, радиорезистентная, - в различные дни содержание сульфгидрилов оказывается всегда намного выше, чем у контрольных. Таким образом, в этих опытах такая прямая зависимость между радиочувствительностью и сульфгидридами имеет место. Были изучены сульфгидрильные соединения в первично-радиорезистентных опухолях, к которым относится асцитная опухоль яичка крыс и опухоль Плисса, а для сравнения - очень радиочувствительных. Таблица показывает, какова разница между чувствительностью. При дозе 3000 р и 5000 р наблюдается 100% прививаемость асцитной опухоли крыс и низкая прививаемость опухоли Плисса. Оказалось, что в различные дни прививания в асцитной опухоли намного выше содержание сульфгидрилов, чем в более радиочувствительной опухоли лимфосаркомы. После облучения двух типов опухолей, первично резистентной и чувствительной, обнаруживается определенная закономерность изменения содержания сульфгидрилов. Если через 1 час и 4 часа мы видим в асцитной опухоли меньшее снижение сульфгидрилов, то в лимфосаркоме мы видим резкое падение через 4 часа, уменьшение при-

мерно в 4-6 раза содержания сульфгидрилов. Таким образом, в первично-чувствительных, первично-резистентных опухолях радиационное поражение действительно коррелирует, согласно многим авторам, с колебанием содержания сульфгидрилов. Отчетливо меняется содержание сульфгидрилов в условиях облучения под жгутом, в состоянии аноксии. Это известный факт. Я хочу только подчеркнуть, что колебание сульфгидрилов, а также чувствительность опухоли, ее регрессия, зависит не только сама по себе от аноксии, а от продолжительности наложения жгута после облучения. В одних случаях жгут оставался на полчаса, в других - снимался непосредственно после облучения. Через 2 часа мы видим существенную разницу в содержании сульфгидрилов, а также в регрессии опухоли. Таким образом, большинство наших данных, касающихся первичной приобретенной радиостойчивости и первичной радиостойчивости, если в значительной степени коррелируют с содержанием SH-групп, то в первом случае, когда мы исследовали колебания сульфгидрилов в различные дни, мы такого параллелизма не нашли. Следовательно, не во всех случаях можно радиочувствительность связывать с содержанием сульфгидрилов. Надо допускать и иметь в виду и другие механизмы, нивелирующие эту зависимость.

Т.А.ШЕЙКИНА - Мое выступление связано с докладом доктора Ревеса. В одной из последних работ, в 1967 г., вами опубликованы данные о радиочувствительности клеток китайского хомяка при облучении в кислороде и в аргоне, и получено, что в кислороде имеется S -образная зависимость выживаемости клеток от дозы облучения, а при облучении клеток в аргоне имеется экспоненциальная зависимость. В связи с этим вы вполне логично предположили, что, если фракционировать дозы облучения, то

будет наблюдаться эффект фракционирования, т.е. повышение выживаемости, а если фракционировать дозу для клеток, находящихся в аргоне, то эффекта восстановления не будет. Вами получены следующие цифры. Дозы для кислорода были: 400 и 800 р, и два раза - 400+400 р. Выживаемость при этом была 7,8%, 0,63% и 1,18%. Как будто налицо эффект восстановления. При фракционировании 400+400 р получается выживаемость больше, чем в том случае, когда доза 800 р была дана в виде однократного облучения. В аргоне дозы соответственно были большие: половинная доза 800 р, полная доза 1600 р, при однократном облучении, и две дозы по 800 р, разделенные интервалом времени. Получился как будто бы ожидаемый вами эффект с экспоненциальной зависимостью выживания от дозы в аноксических условиях, и не следовало бы ожидать эффекта фракционирования. И действительно, выживаемость осталась на том же уровне. Однако эти цифры вызвали у нас вот какие соображения, и я бы хотела получить от вас разъяснение. Если при 400 р выживаемость 7,8%, то, что следовало бы ожидать при 800 р, если бы зависимость выживания от дозы была бы экспоненциальной? Следовало бы ожидать квадрата, т.е. выживаемость 0,078%, ведь если выживаемость выразить в зависимости от дозы, нужно возвести в квадрат. Это будет 0,061, а если перевести в проценты - 0,61%, т.е. получается, что квадрат выживаемости от половинной дозы фактически совпадает с выживаемостью при удвоенной дозе. Это свидетельствует о том, что в данном случае в этом эксперименте мы имеем дело с экспоненциальной зависимостью выживаемости от дозы облучения, а не с \oplus -образной. Кроме того, аддитивность эффекта при удвоении дозы - это простая аддитивность эффекта, она является теоретическим пределом вос-

становления, полного восстановления при фракционировании дозы. И, следовательно, цифра 1,18% как-будто теряет всякий смысл, потому что максимальное восстановление при фракционировании дозы, какое следовало ожидать от двух доз по 400, это 0,61%. Вот такая должна была быть выживаемость при полном восстановлении, а величина 1,18% значительно превышает то, что должно было быть максимально, и ее значение совершенно нам непонятно.

Точно также, если проанализировать цифры, которые приведены для аргона, то получается, что, возведя в квадрат величину выживаемости при 800 р, мы получим величину около 0,1. Это значит, что при экспоненциальной зависимости выживаемости от дозы облучения при 1600 р следовало ожидать выживаемость 0,1. Выживаемость, которую получили бы в этих двух случаях, в 4 раза превышает эту максимальную возможную величину при экспоненциальной зависимости. Таким образом, вот эти две цифры, их значение, непонятны. Фактически, у меня имеется большой развернутый вопрос. Каким образом, как объяснить прирост этого эффекта, если вы считаете его вполне реальным, и как вообще объяснить, что это за ϵ -образная кривая, которая при двух дозах, в 400 и 800 р, имеет величину выживаемости просто аддитивную, так, как полагается для экспоненты?

Л. РЕВЕС - Вы правы в том, что задали этот вопрос. В связи с экспоненциальной и ϵ -образной кривыми. Мы имели экспоненциальную часть кислородной кривой Шелда, и это есть причина, почему мы использовали 400 р в кислороде, т.е. чтобы попасть на экспоненциальную часть кривой. И именно поэтому использовали 800 р в аргоне, чтобы выяснить, имеет ли кривая выживания плечо или нет. Поэтому использовали дозы, соответственной 10%-ой

выживаемости. Мне нужны время и логарифмическая бумага, чтобы это пояснить.

Заключительная (общая) дискуссия

03/XI-1968 г.

А.М.КУЗИН - На нашем симпозиуме от имени оргкомитета предложено обсудить точки зрения, гипотезы и мнения собравшихся сегодня здесь специалистов, работающих в области радиобиологии, по поводу именно тех первичных и начальных процессов, которые разыгрываются в облученной клетке. Цель дискуссии - высказаться о том, какие это именно процессы, какое значение, какой удельный вклад может иметь тот или иной процесс в конечном радиационном поражении клетки, высказать свои соображения о тех или иных гипотезах, теориях и принципах, которые были выдвинуты раньше; может быть, целесообразно также обменяться соображениями о тех экспериментах, которые желательно поставить для того, чтобы можно было решить некоторые спорные вопросы. Оргкомитет просил меня, как председателя сегодняшнего собрания, не разрешать выступать сегодня с частными микросообщениями, не использовать сегодняшнее время для заслушивания еще каких-то экспериментальных данных, хотя, конечно, при обсуждении той или иной точки зрения каждый может привести очень коротко результаты тех или иных экспериментов, может быть ранее не сообщавшиеся, которые так или иначе подтверждают его точку зрения.

На обсуждение, как уже говорилось, поставлены четыре вопроса, причем будет целесообразно вести дискуссию не сразу по всем вопросам, а по каждому вопросу отдельно. Каждый из этих

вопросов возник в результате тех докладов, которые мы слушали, и тех дискуссий, которые уже возникали и у нас, и в кулуарах. Поэтому я буду очень просить выступать только по тем вопросам, которые поставлены, может быть по некоторым мы очень быстро найдем общую точку зрения и дискуссия не будет длительной, а по некоторым, может быть, придется задержаться большее время.

Первый вопрос, который поставлен сегодня на дискуссию, в какой-то мере, по-моему, вызван докладом нашего глубоководного Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского. Он говорил в своем докладе о том, что многие радиобиологи неправильно понимают принцип мишени и принцип попадания. Вопрос сформулирован таким образом: дает ли нам так называемый принцип мишени что-либо для понимания природы первичных процессов, происходящих в облученной клетке? Чтобы было ясно, о чем мы говорим, мне бы очень хотелось просить коротко, по возможности в самой лаконичной форме, еще раз сформулировать, что такое принципы попадания и мишени. Я буду признателен, если это сделает кто-нибудь из придерживающихся и пропагандирующих эту точку зрения. Ведь это то, что действительно неясно многим радиобиологам. Причем мне бы хотелось прежде всего подчеркнуть, и это было в работах проф. Тимофеева-Ресовского довольно отчетливо сказано, что не нужно путать принцип попадания и принцип мишени и теорию мишени. Я должен сказать, что мне понятно полностью, и, я думаю, все радиобиологи хорошо понимают, что такое теория мишени, как она была в свое время изложена Ли, Тимофеевым-Ресовским и Циммером. Теория мишени нам всем понятна и нам ясно, что под этим понимается, и ясно, что здесь идет речь именно об определенной точке зрения и имеется область, где она с успехом может быть

применена, и есть явления, где она очень мало дает или вообще не может быть применена. Но это, по-видимому, уже не относится к принципу, потому что принцип – это нечто всеобщее. Вот это различие на сегодняшний день неясно. Тем более, что в последней вышедшей книге "Применение принципа попадания в радиобиологии" наших уважаемых авторов я, по крайней мере, не нашел отчетливого, точно сформулированного определения принципа мишени. Повторяю, принцип попадания нам всем ясен, энергия не может восприниматься, если ионизирующая частица непосредственно не попала или не прошла вблизи молекулы и за счет миграции энергии этой молекулы. Это, собственно говоря, альфа и омега всей радиобиологии, и дискутировать здесь абсолютно не о чем. Мне представляется, что принцип мишени и принцип попадания, когда мы имеем дело с таким сложным образованием, каким является клетка с ее совершенно очевидной гетерогенностью и с различной значимостью разных ее участков, то тут уже принцип, или, как мне ясней, теория мишени, означает нечто совсем другое, чем просто способ восприятия дискретной энергии отдельными частицами. Поэтому прежде чем обсуждать, что дает нам принцип мишени в радиобиологии, я бы очень просил кого-нибудь из присутствующих коротко и точно сформулировать, что понимается под принципом мишени.

Н.В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ – Мне очень жаль, что, по-видимому, я в своем кратком докладе выразился неясно. Мне кажется, то, что я и целый ряд других людей, стоящих примерно на той же точке зрения, хотели прежде всего подчеркнуть, это злоупотребление в комбинации с этими двумя словами – попадание и мишень, – словом "теория". Мы настаиваем, что это – принципы. "Принцип попа-

дания" связан просто с природой излучений, с дискретной природой излучений, а "принцип мишени", если хотите, опять-таки связан с дискретной гетерогенной природой облучаемого живого вещества. Это - принципы, а не теории. Теории строятся для объяснения частных случаев возникновения тех или иных определенных изменений или реакций на облучение. Наша точка зрения сводится к тому, что никакого противопоставления между этими частными теориями и принципами попадания и мишени не может быть. Это первое положение.

Второе положение - это то, что в целом ряде случаев целесообразно строить частные теории, не разобравшись, с точки зрения принципов попадания и мишени, с тем, что первично происходит, когда вы облучаете живое вещество. Вот это, в сущности, те исходные, совершенно определенные точные и отнюдь не расплывчатые положения, из которых мы исходим.

Далее: мне кажется, что противопоставление между различными частными теориями и тем, что многие пытаются называть "теорией мишени", а на самом деле следует называть "принципом мишени", основано опять-таки на большом недоразумении. Я не думаю, что в наше время имеет большое значение говорить о таких неопределенных вещах, как, например, "поражение клетки". Какое именно поражение? Каких именно клеток? Разные клетки в разных случаях поражаются по-разному. И изучать можно разные стороны поражения клеток. Мне кажется, что если человек желает изучать определенную лучевую реакцию клеток, то работа становится довольно неопределенной и бессодержательной, если не постараться привести в какое-то разумное и по возможности простое однозначное соответствие изучаемой реакции с некоей мишенью, с тем,

что именно изменяется, когда возникают единицы изучаемой реакции. Вот тут можно строить теории, объясняющие механизмы возникновения наблюдаемой и изучаемой клеточной реакции, применяя принцип мишени в тех случаях, как мы всегда подчеркиваем, когда это можно и разумно. То есть, когда это можно и разумно, то следует провести анализ первичных физических пусковых механизмов, инициирующих единицы изучаемых реакций.

Если же изучается клеточная реакция, которая по тем или иным причинам, или просто пока по нашему незнанию, или в силу самой природы вещей, не поддается расчленению на однозначные единицы реакции, то принцип мишени просто трудно применить. Если мы не знаем, что же должно измениться для того, чтобы вызвать изучаемую нами реакцию, то, конечно, на этом разговор прекращается и всякий спор тоже прекращается. Зачем же спорить о том, чего не знаешь?

Если же это возможно, то тогда возникает иногда необходимость, иногда лишь возможность, а иногда не возникает и возможности разобраться в первичных физических пусковых механизмах, лежащих в основе единицы реакции изучаемого эффекта облучения. И вот тогда, конечно, приходится неизбежно применять в своих рассуждениях оба принципа: принцип попаданий, отображающий, как уже говорилось, дискретную природу излучений и их взаимодействие с веществом, и принцип мишени, отражающий гетерогенность клетки. Действительно, ведь если за единицу данной изучаемой реакции отвечают какие-либо макромолекулы, присутствующие в клетке в неограниченном количестве, или же уникальная внутриклеточная органелла, наподобие хромосомы, то это, как говорят в Одессе, две большие разницы. Это совершенно несомненно.

Следовательно, мне кажется, можно так сформулировать одно из существенных положений: там, где это можно и целесообразно, — а именно такие случаи имеют наибольшие аналитические значения, — нужно стремиться найти первичное поражение или, вкажем более обще, первичное изменение каких именно внутриклеточных мишеней инициирует единицу изучаемой реакции. Где же это по тем или иным причинам невозможно, — ну, что же поделаешь, там остается такое, с точки зрения биофизики ионизирующих излучений, диффузное предстание, с которым дальше многого не предпримешь. Это отнюдь не исключает того, что методами биохимии, методами экспериментальной клеточной физиологии можно изучать отдельные звенья и череду звеньев тех реакций, которые характеризуют финальное изучаемое нами радиобиологическое явление.

Но много большего здесь не сделаешь.

И, наконец, последнее, что мне хочется подчеркнуть. Мне кажется, что при изучении действия ряда сопутствующих факторов на основной изучаемый эффект облучения часто упускают одну важную вещь, о чем я в своем докладе бегло упоминал. Это — механизмы миграции энергии попадания или попаданий в пределах некоего эффективного объема. Нужно всегда помнить, что те комнатные условия, в пределах которых мы можем варьировать сопутствующие факторы, комнатные условия с точки зрения радиационного физика, не влияют на взаимодействие быстрых частиц с веществом, но они легко могут влиять на структуру физико-химическую, первичную, вторичную, третичную, четверичную, если это касается, например, полимеров облучаемого вещества, и тем самым изрядно влиять на судьбу "возбужденных экситонов", а это ни что иное, как определенная характеристика выхода реакции

на единицу дозы.

Я не вижу никакой проблемы и, собственно, никакого даже повода для дискуссий по поводу принципа попадания и принципа мишения. Это те общие принципы, с которыми нужно считаться во всех тех случаях, когда пытаешься разобраться в первичных физических пусковых механизмах, лежащих в основе часто очень сложных комплексных конечных наблюдаемых радиобиологических реакций, представляющих обычно те или иные цепи химических реакций, протекающих в клетке, связывающих первичное изменение с конечным эффектом.

А.М.КУЗИН - К сожалению, определения более конкретного вы все-таки не дали. Насколько я вас понял, вы ставите знак равенства между принципом попадания и принципом мишени. Правильно я вас понял? Вы все время оба термина употребляете одновременно.

Н.В.ТИМОФЕЕВ-РЕСОБСКИЙ - Мне непонятно, как это непонятно. Принцип попаданий характеризует физическую природу излучений. Принцип мишени не только для клетки, а для чего-угодно характеризует гетерогенность облучаемого вещества.

Если вы облучаете гомогенный простой раствор, то можете забыть о принципе мишени, потому что каждая из многих одинаковых молекул является мишенью. В тех же случаях, когда, как в живой клетке, вы имеете что угодно, только не гомогенный раствор, а чрезвычайно сложную архитектурную структуру, то это - чрезвычайно существенно, и для того, чтобы строить действительные теории, необходимо прежде разобраться, первичные изменения каких именно специфических структур, иногда уникальных, иногда представленных в клетке немногими единицами, должны произойти для того, чтобы вызвать конечный наблюдаемый эффект.

И вот в таких случаях мы говорим о принципе мишени. Это и есть принцип мишени: отображение гетерогенности, неравнозначности микрогеометрических элементов облученного вещества. И тут естественно возникает целый ряд интересных вопросов и интересных других понятий, таких, как эффективный объем, миграция или транспорт энергии и всякие вещи, не бесполезные для аналитических целей, потому что можно, подбирая соответствующие условия, в некоторых случаях выяснить, влияет ли то или иное условие на транспорт энергии или на структуру, например, на степень гидратации макромолекул, и тем самым изменяющих естественный эффективный объем. Так что, мне кажется, здесь все предельно ясно и понятно, и причины для спора нет.

В.И.КОРОГОДИН - Я хочу сказать два слова относительно некоторых взаимных недопониманий, исторически сложившихся в радиобиологии между представителями качественного и количественного направлений. Принцип попаданий и мишени, о котором шла речь, по-моему, настолько очевиден и методологически неизбежен, что о нем действительно нечего больше говорить. Это - отражение квантированности и гетерогенности биосубстрата. Другое дело, что под теорией мишени часто понимают не то, чем она является, и у разных людей на это есть разные точки зрения.

Исторически сложилось так, что на основе принципа попадания был разработан логический математический аппарат, который позволяет рассчитывать кривые, отражающие зависимость частоты возникновения регистрируемой реакции от числа попаданий, или от данного числа попаданий в данное число мишеней. Это - чисто формальная математическая и логическая совокупность представлений и уравнений, которая создавалась с совершенно определен-

ным смыслом, для использования там, где это нужно. Вот этот комплекс математических и логических представлений, оторванных от всяких механизмов действия, и есть теория мишени. Основные понятия здесь - число мишеней и число попаданий, а доза облучения выражается в единицах, зависящих от физической природы и событий попадания. Эта теория позволяет рассчитывать кривые, показывающие, как будет зависеть частота эффекта от числа попаданий и от дозы.

Но дело в том, что кривые такие можно рассчитать для любого заданного числа мишеней и заданного числа попаданий в мишень. Если мы знаем, сколько мишеней нужно поразить, чтобы наступила реакция, каким числом попаданий какой природы, то в этом случае мы можем применять этот комплекс математических построений к конкретным случаям.

В то же время из принципа попадания и мишени и из этого комплекса математических представлений следует, что обратного решения не существует. Т.е., имея только кривую "доза-эффект", ни один математик не скажет, сколько попаданий вызывает реакцию. Другими словами, существует элементарно простая истина, что любую экспериментальную кривую в пределах ошибки опыта можно описать любым числом уравнений, каким угодно числом уравнений. Любую точку зрения можно так оформить математически, чтобы, комбинируя коэффициенты, описать экспериментальную кривую, но совпадение кривой с уравнением, или, наоборот, ничего не говорит о правильности этой точки зрения. Вот что такое количественный подход в радиобиологии.

К сожалению, часто делалось все наоборот. Началось это за рубежом, потом и у нас. Начали подгонять уравнения под кри-

вые и говорить, например, что вот здесь 10 мишеней и требуется 5 попаданий, чтобы вызвать гибель. Это - не корректно, не правильно. Это - дискредитация настоящей количественной радиобиологии. В книге Д.Э.Ли "Действие радиации на живую клетку" написано черным по белому, что теорию мишени в ее истинном смысле можно прилагать лишь к тем случаям, где мы знаем из других биологических источников, что данная единица реакции вызывается осуществлением, например, одного попадания в некую структуру, но узнаем мы это не из кривой "доза-эффект", а из комбинации строго разработанной схемы опытов. В частности, Ли предложил критерий, как можно узнать, что единица реакции вызывается одним попаданием, а это попадание есть одна ионизация. Для этого следует иметь семейство кривых "доза-эффект" для излучения разных линейных потерь энергии, для доз, по-разному распределенных во времени, при облучении при разных температурах. Т.е., чтобы быть корректным, нужно все время строго придерживаться вот таких уже давно разработанных требований, которые позволяют корректно использовать теорию мишени. Если же я попытаюсь забить толстый гвоздь небольшим микроскопом, и микроскоп сломается, это не значит, что микроскоп был плохой, это значит, что я почему-то сделал нелепость, начал гвоздь забивать микроскопом.

По-моему, здесь нет никаких противоречий. Если одни люди занимаются анализом кривых выживания, а другие занимаются анализом биохимических изменений в клетке, то это дополняет одно другое, а не исключает, потому что если произошло попадание в какую-то структуру, там начинаются биохимические изменения. Но хотя биохимические изменения начинаются во всех

местах, куда произошли попадания, отнюдь не всякие биохимические изменения равнозначны биологически для данной реакции. С другой стороны, разные реакции, регистрируемые в эксперименте, могут быть связаны с различными первичными местами попаданий. Наша задача не в том, чтобы спорить, какой подход правилен – теория мишени или, например, теория токсинов. Задача наша в том, чтобы экспериментально попытаться определить, какие именно изменения ответственны за какие реакции. Вот точка зрения нашей группы.

А.М.КУЗИН – Я думаю, что действительно, с такими положениями, как то, что принцип попадания отражает квантируемость энергии, а принцип мишени отражает только то, что клетка гетерогенна, вряд ли кто будет спорить. Вряд ли здесь имеется предмет дискуссий и вряд ли кто-нибудь сейчас будет думать, что различные участки клетки имеют одинаковое значение для последующих происходящих событий. Ясное дело, что попадание в одни структуры вызывает, может быть, одни эффекты, а попадание в другие – другие. Но ведь нам сейчас интересно, я думаю, не то, что здесь дискуссии нет. То, что сказали Николай Владимирович и Владимир Иванович, я думаю, все совершенно ясно.

Может быть, кто-нибудь желает высказаться, что же это все-таки такое – анализ кривых с позиции теории мишени, что это дает для понимания тех процессов, тех первичных и начальных процессов, которые происходят в облученной клетке. Мне представлялось, что здесь можно получить две очень существенных информации.

Первое – это получить какую-то информацию о размерах поражаемой мишени, и второе – получить очень важную информацию,

нужно ли для гибели клетки попадание в одну мишень, или в некоторое количество мишеней, нужно ли одно попадание, нужно ли некоторое количество попаданий. На второй вопрос, как показал в своей блестящей работе Циммер, один из основоположников теории мишени, очень трудно дать ответ, анализируя кривые, полученные с нашей экспериментальной точностью. Эту информацию, по-видимому, с трудом можно получить из анализа кривых, используя только эту теорию. Вопрос о размерах мишени в живой метаболизирующей клетке, учитывая процессы восстановления, очень активно идущие, по-видимому, тоже не может быть решен при помощи анализа кривых с использованием этих само собой очевидных принципов.

Теперь мне хотелось знать, кто-нибудь желает или нет уточнить все-таки, что же, собственно говоря, полезное для понимания природы лучевого поражения клетки дали принципы попадания и мишени. Я должен сказать, что радиобиология сегодняшнего дня, я считаю, принципиально отличается от радиобиологии 40-х годов, потому что в 40-х годах мы еще не ставили вопрос о сущности жизненных явлений на молекулярном уровне. Сейчас мы к этому подходим, и сейчас, естественно, нас не удовлетворяет чисто формальное описание явления. Мы желаем знать, что реально происходит в клетке, какие реальные структуры страдают в первую очередь и затем вызывают целый ряд последовательных реакций, ибо это нам нужно для реального вмешательства в эти дела, для решения вопроса профилактики, защиты и т.д. Меня интересует, что реального дает анализ кривых с позиции принципа мишени для реального понимания первичных событий, происходящих в клетке. Вот по этому поводу, может быть, кто-нибудь хотел бы высказаться.

Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ - В виду отсутствия К. Г. Циммера, мне хочется внести небольшую поправку. Действительно, мы сослались на прекрасную работу Циммера, в которой он показал, что если взять формально s -образные кривые "доза-эффект", то в большинстве случаев нельзя, принимая соображения неизбежной ошибки опыта, отличить целый ряд кривых одного попадания в несколько мишеней или несколько попаданий в одну мишень. Совершенно верно. Но это не есть какой-либо подрыв аналитического значения метода анализа кривых, потому что эту же проблему можно решить, используя опять-таки семейство кривых, полученных при варьировании физических параметров опытов. Эта работа Циммера была направлена против "перегибов" многих радиобиологов, которые занимались чисто формальным вычислением числа попаданий путем анализа только одной кривой "доза-эффект". Все это нужно совершенно ясно себе представить.

И второе утверждение, что радиобиология сегодняшнего дня принципиально отличается от радиобиологии вчерашнего дня. Это не совсем правильно. С точки зрения принципа попадания и мишени радиобиология сегодняшнего дня, использующая целый ряд наших знаний из области молекулярной биологии клетки, требует особо тщательного применения теории мишени. В тех случаях, где мы 30 лет тому назад могли говорить об абстрактных каких-то мишенях, мало заботясь об их конкретном физико-химическом и клеточно-морфологическом содержании, сегодня мы просто обязаны, если мы хотим развивать в дальнейшем теории механизма радиобиологического действия, заботиться прежде всего о достаточно однозначном определении природы тех мишеней, с которыми мы работаем. Эти мишени могут быть очень разнообразны. Они могут

быть внутриклеточными мембранами, они могут быть липоидными опорными структурами, изменение которых может нарушать внутриклеточный метаболизм. Они могут представлять собой определенные редкие внутриклеточные биологически активные молекулы, они наконец, могут представлять собой уникальные управляющие структуры: типа генов или хромосом и, может быть, кое-каких цитоплазматических структур. Так что это опять-таки не является предметом спора. Я еще раз подчеркиваю, здесь надо говорить не о теории мишени, а о принципе мишени. Если хотите, вы, биохимики, можете ввести новый термин. Теория мишени пригодна лишь для тех случаев, когда вы строите теорию, основанную на знании роли определенных структур-мишеней в определенной экспериментальной ситуации, т.е. когда вы облучением вызываете и изучаете определенную клеточную реакцию. Тогда, если хотите, можно говорить о теории мишени, но можно во избежание путаницы заменить этот термин другими словами.

О. В. МАЛИНОВСКИЙ – Мне кажется, что доклад и выступление Николая Владимировича, а также выступление Владимира Ивановича Корогодина, совершенно справедливо подчеркивают то, что у нас действительно имеется принцип попадания и спорить здесь невозможно. Принцип есть принцип. Вопрос о том, полезен или вреден этот принцип, и как его можно применять. Если этот принцип применим для данной конкретной реакции, то не считается с этим невозможно. Надо помнить, что любая количественная теория, любая количественная модель в радиобиологии так или иначе связана с принципом попадания. Отрицать значение математических моделей невозможно, совершенно независимо от того, на каком уровне мы работаем: цитологическом, цитогенетическом

или биохимическом. Дискуссию, на мой взгляд, следует вести на ту тему, в какой мере данное явление может быть действительно описано с позиций принципа попадания, и эта категория применимости принципа попадания является категорией сугубо количественной. Я поясню это на простом примере. Николай Владимирович в своем докладе подчеркнул, откуда возник принцип попадания. Прежде всего, радиобиологи заметили, что по конечному эффекту популяция, скажем, клеток очень сильно различается. Какая-то доля клеток не поражена, какая-то поражена. Если мы регистрируем цитогенетический эффект, каждый радиобиолог прекрасно знает, что при любой дозе мы имеем некоторую долю клеток без aberrаций, какую-то долю с одной, двумя, тремя и т.д. aberrациями, и в общем случае чаще всего распределение вст этих конечных радиобиологических эффектов, конечных фиксированных реакций, подчиняется какому-то закону, чаще всего - распределению вероятности редких случайных независимых событий. Мы знаем также, что в небольших объемах распределение поглощения энергии ионизирующей радиации происходит дискретно и тоже подчиняется приблизительно таким же закономерностям. Отсюда делается вывод, что клетка выжила потому, что в нее не произошло попадания, или в клетке имеется два или три повреждения потому, что это произошло в результате случайного статистического распределения попаданий при прохождении ионизирующих частиц, скажем, через ядро клетки. Все это было бы абсолютно правильно и верно в том случае, если вероятность того, что мы будем иметь некоторую фиксированную реакцию при наличии попадания, близка к единице. На самом деле, и об этом уже давно радиобиологи говорят, а сейчас становится все более и более ясно, что мы

наблюдаем конечный эффект только небольшой доли тех результатов попадания, которые произошли в клетке. Поэтому здесь может наблюдаться очень интересная вещь, может наблюдаться такой случай, когда практически при данной дозе мы действительно по конечному эффекту видим очень большую гетерогенность, но по числу попаданий начальные клетки почти не различались. Например, из доклада Всеволода Петровича явствует, что в целом ряде случаев для сравнительно простых объектов, как фаги или, скажем, бактериальные клетки, система восстановления может изменять вероятность реализации, проявления или нереализации попаданий по крайней мере на один порядок, в 10 раз. Что это значит? Это значит, что если мы наблюдаем 37% выживших единиц, т.е. в среднем мы имеем одно эффективное попадание на клетку, при вероятности реализации $P=0,1\%$ это означает, что при этой дозе там, где у нас 37% единиц выжило, мы имеем в среднем начальных 10 попаданий на клетку, а не одно. В этом случае можно нарисовать бесхитростную модель, и я приведу две-три цифры, чтобы показать, какая получается картина в среднем при попаданиях на клетку. Мы имеем группу клеток с одним попаданием, двумя, тремя и т.д. Обозначим группу клеток, где имеется от I до 4 попаданий, группу клеток с 5-7 попаданиями, группу клеток с 8-10 попаданиями, II-13, 14-16 и т.д. Теперь посмотрим, из чего состоят выжившие клетки, которые формально как бы не имели ни одного попадания. Сколько в них на самом деле было попаданий? Расчеты показывают, что только 5% из этих выживших клеток имели число попаданий меньше среднего. От 5 до 7 попаданий - 20%, от 8-18 - 35% и т.д. Уже отсюда совершенно ясно, что происходит даже при такой сравнительно

большой вероятности реализации, как 0,1%, но эта вероятность может быть и значительно меньшей. Ли считал, что 0,5% первичных разломов хромосом сшивается, но Вольф, скажем, довел тут цифру до 99% и т.д. Отсюда мы видим, что распределение клеток на пораженных и непораженных, распределение пораженных на клетки с разной степенью поражения определяется не столько статистикой попаданий, сколько статистикой внутриклеточных процессов. Если восстановление есть процесс независимый, то независимая фиксация отдельных элементарных повреждений за счет вот этой статистики и формирует окончательное распределение. Поэтому, если мы хотим построить корректную математическую модель, а делать это совершенно обязательно нужно, необходимо учитывать внутриклеточную статистику. Причем своевременно, это имеет большое значение. По нашим расчетам получалось, что вероятность восстановления клеток популяции при данной дозе примерно равна у всех клеток. При этом мы, исходя из принципа попадания, считали, что это не может быть ясно, что при любой дозе клетки первоначально, в соответствии с принципом попадания, крайне гетерогенны, и в то же время вероятность восстановиться у них одинакова. Пришлось дополнительно создать целый ряд гипотез, которые потом блестяще провалились. Поэтому мне кажется, что принимая принцип попадания в той форме, в которой он был исходно сформулирован, в конкретных делах необходимо учитывать, насколько количественно он работает и чем определяется как сам конечный эффект, так и распределение конечного эффекта.

Н.И. РЯБЧЕНКО - Когда возникают вопросы подобного типа, которые возникли на дискуссии, то здесь забывается одно, что, в сущности, когда мы говорим о механизме, мы рассматриваем

каждый раз конкретную биологическую реакцию. Это первое. Во-вторых, нас интересуют пути физико-химического возникновения данной конкретной биологической реакции. И вот здесь возникает такая вещь, что принцип мишени ограничивает те участки клеток, в которых стоит искать те первичные события, которые приводят к данной биологической реакции. Например, если у нас возникает генная перестройка или хромосомная перестройка, то, используя данные радиобиологии, мы можем сказать, что первичные повреждения возникли в хромосоме или в гене, более того, принцип мишени дает нам возможность оценить до некоторой степени, какие физико-химические реакции могут быть кандидатами на то, чтобы дать начало биологической реакции. Я поясню это таким примером. Если количество одиночных разрывов, или вероятность повреждения генов за счет одиночных разрывов, будет меньше той вероятности, которую мы определяем биологически, то мы можем положить крест на одиночных разрывах как на первичных повреждениях ДНК. И вот мне кажется, это будет правильным применением этих принципов. Здесь можно уже достаточно четко сказать, стоит ли физико-химически изучать определенные первичные реакции, которые происходят в разных молекулах. Во всяком случае, сейчас и Мадиновский говорил о том, что статистика распределения биологических изменений в клетках скорее отражает статистику восстановительных процессов, или статистику попаданий. Я могу сказать, что количественный подсчет вероятности возникновения повреждения в гене и сопоставление вот этой цифры с вероятностью, которую определяют биологи, показывает, что в гене возникает примерно на порядок, на два больше повреждений, которые могут вызывать этот эффект. Здесь уже должна идти работа каких-то восстано-

тельных систем, которые и дают распределение генных мутаций в зависимости от дозы. Принцип мишени, мне кажется, ограничивает выбор определенных первичных механизмов, которые мы в дальнейшем можем рассматривать как кандидаты для анализа.

А.М.КУЗИН - Заканчивая дискуссию по первому вопросу, мне хочется подчеркнуть три момента; если будут несогласные, то мы можем продолжить дискуссию.

Первый момент - это принцип попадания, который фиксирует дискретный характер энергии и отражает характер поглощения энергии в живой клетке, молекулами живой клетки. Ясно, что это принцип, из которого мы исходим, никаких вопросов здесь нет.

Второй принцип - по-моему, то же самое. Это принцип гетерогенности клетки и неравнозначности ее отдельных органелл, ее отдельных молекул, отдельных структур. Это тоже совершенно очевидно в радиобиологии, но мне лично не хочется это называть принципом мишени, потому что, по-моему, это неравнозначные понятия. К принципу мишени мы всегда примешиваем заранее привносимое предположение, что попадание только в какой-то определенный участок или в ряд определенных участков решает все дело.

В.И.КОРОГОДИН - Это неправильно.

А.М.КУЗИН - И если это неправильно, я с вами согласен. Тогда, следовательно, лучше говорить о принципе гетерогенности и неравнозначности. И теперь, по-моему, очень важно сформулировать третий принцип, основной принцип, из которого стоит исходить в радиобиологии. Это - принцип единства клетки, то, что в клетке все взаимосвязано. Мы не можем рассматривать в клетке функции гена вне функции всех остальных органелл, и поэтому этот принцип чрезвычайно важен для понимания первичных и на-

чальных процессов, ибо он с самого начала подчеркивает, что как бы важно ни было поражение того или иного участка, это поражение сыграет свою роль и будет реализовано только в зависимости от общей ситуации, которая складывается в облученной клетке, ибо иначе мы нарушим принцип единства клетки. Вот это, положение, по-моему, очень существенно. Мне хотелось его подчеркнуть. Если здесь есть возражения, я был бы очень рад их услышать, если мы здесь едины, то, может быть, закончим обсуждение этого вопроса.

Второй вопрос: Может ли объем хромосом в клетке рассматриваться как мишень, поражение которой определяет основные радиационные эффекты?

Л.Х. ЭЙДУС - Второй вопрос непосредственно связан с решением первого вопроса, и если первый вопрос так формулировать, как формулировали первые выступавшие, которые подчеркивали, что теория мишени заключается только в том, что клетка гетерогенна, то тогда и постановки второго вопроса нет. Мне кажется, что я должен вернуться к первому вопросу, сказать свою точку зрения, потому что тогда будет ясно, каковы мои соображения по второму вопросу.

Действительно, все правильно, когда говорят, что принцип попадания связан с дискретностью не энергии, а поглощения энергии в веществе, скажем так, а принцип мишени действительно основан на гетерогенности клетки. Гетерогенность клетки является для него необходимым фоном для проявления. Но, тем не менее, теория мишени или принцип мишени в применении к клетке означает утверждение, что среди этих гетерогенных структур разную значимость в лучевом поражении имеют разные структуры,

для каждого данного критерия, а критерии поражения могут быть различны. Имеется какая-то выделенная система, выделенная структура, а не вся клетка одинаково, которая ответственна за данное проявление эффекта. В этом смысле я согласен с постановкой вопроса Александром Михайловичем и с тем, что говорил в самом конце Владимир Иванович. Хотя он и возражал Александру Михайловичу, что не в этом состоит теория мишени, но в конце он тоже говорил относительно того, что важно, какая структура, какая именно отдельная структура ответственна за данное проявление поражения. Вот в этом утверждении и есть теория мишени. Она не говорит, конечно, о том, каков химический механизм, субстрат и его природа, а говорит о том, что имеется такая структура, говорит о ее объеме и т.д. А с этой точки зрения второй вопрос следует ставить так: можно ли сказать, что хромосомы являются мишенью для основных поражений клетки. Обязательно нужно говорить, для каких поражений. Если мы не будем так ставить вопрос, то мы никогда на него не получим ответ, потому что есть поражения, которые не определяются хромосомами. Поэтому нужно знать, что хотят сказать постановкой этого вопроса, чтобы не затягивать дискуссии. Что все определяется объемом хромосом? Или указать, какие именно реакции? По-моему, это тривиально. Поэтому я предлагал второй вопрос пропустить и перейти к следующему вопросу дискуссии.

А.М.КУЗИН - Третий вопрос: можно ли считать, что первичные радиотоксины вносят значимый вклад в радиационное поражение клетки?

Д.А.КЕРКИС - Мне кажется, надо прежде всего договориться, о каких поражениях клетки идет разговор. В этом вопросе это

особенно существенно. Если мы говорим о генетических повреждениях клетки, т.е. о повреждениях хромосом, то, мне думается, что имеющиеся в настоящее время экспериментальные материалы позволяют говорить о том, что первично возникающие радиотоксины, хотя и играют какую-то роль, но весьма и весьма незначительную. И сравнивать генетический эффект радиотоксинов с прямым радиационным эффектом нельзя. Об этом говорят прямые экспериментальные данные. Если мы обратимся к физиологическим изменениям, например, к таким критериям, как митотическая активность, то здесь влияние радиотоксинов несколько больше. Я затруднился бы сказать, что для таких цитофизиологических эффектов влияние радиотоксинов составляет 50% или около этого общего радиационного эффекта. Я думаю, что оно меньше, но поскольку возможные пути влияния на протекание различных цитофизиологических процессов клетки более разнообразны, то здесь эффект радиотоксинов несколько больше, чем в первом случае. Я думаю, мы сейчас не имеем еще данных для этих эффектов в смысле точного количественного сравнения. Но то, что генетические эффекты радиотоксинов существуют, это можно утверждать и можно утверждать еще и то, что они очень невелики.

А.М.КУЗИН - Я позволю себе в пределах пяти минут высказать несколько своих соображений по этому поводу. Я совершенно согласен, что, говоря о удельном вкладе радиотоксинов, нужно иметь в виду, что не только для различных эффектов их вклад будет весьма различен, но, я думаю, что следует особо различать покоящиеся неметаболизирующие клетки, например, неоплодотворенное яйцо, где идут одни биохимические процессы и где уровень возникающих радиотоксинов будет один, и активно мета-

болизирующие клетки, где повышенная радиочувствительность часто может быть сопряжена с действием радиотоксинов. Мне хотелось бы привести только один пример, уже опубликованный нами, из которого следует, что в ряде радиобиологических эффектов радиотоксины могут иметь очень существенное значение. Мне хотелось бы рассмотреть такой важный, как мне кажется, эффект действия ионизирующей радиации, как угнетение синтеза ДНК, нарушение редупликации генетически значимой макромолекулы. Мы опубликовали в свое время опыты, которые были проведены на клетках *hela* в культуре, где мы микропучком альфа-частиц облучали участок цитоплазмы. По нашим подсчетам мы облучали примерно 50% всей цитоплазмы клетки в условиях, исключающих облучение ДНК. При этом мы наблюдали 18%, - я не буду сейчас приводить все отклонения, это был большой материал с хорошей статистической обработкой, - 18% угнетения синтеза ДНК. Отсюда совершенно логично допустить, что если бы экспериментально мы смогли бы облучить не только 50% цитоплазмы, а 100%, то мы получили бы минимум 36% поражения синтеза. Я особенно подчеркиваю минимум, потому что в литературе имеются работы, показывающие, что чем ближе расположен участок облученной цитоплазмы по отношению к ядру, тем сильнее эффект воздействия облучения цитоплазмы на ядро. Таких работ имеется несколько, поэтому, по всей вероятности, поражение было бы больше 36%. Когда мы облучали в той же дозе, - речь идет о 2000 рентген для *hela*, - всю клетку в целом, то мы получали 50% задержки синтеза ДНК. Отсюда можно сделать вывод, что дистанционное действие, в котором принимают, по-видимому, участие первичные радиотоксины, вносит более 50% наблюдаемого эффекта. Это один из примеров,

у нас есть в наших работах еще несколько и других, которые позволяют сказать, что в некоторых случаях радиотоксины могут давать вклад не менее 50% в общий наблюдаемый радиационный эффект.

В.И.КОРОГОДИН - Какая была доза при облучении клетки целиком?

А.М.КУЗИН - Доза и в этом случае была та же. У нас была серия экспериментов - 2000 рентген, и серия экспериментов - 1000 рентген. Где-то в этих пределах для одной и той же культуры *HeLa*

В.И.КОРОГОДИН - Как определяется эффект?

А.М.КУЗИН - По включению меченого тимидина в ДНК.

В.И.КОРОГОДИН - Значит, этот эффект может быть связан с задержкой клеточного деления.

А.М.КУЗИН - Включение меченого тимидина - это единственный метод, который мы сейчас имеем для определения синтеза ДНК, это типичный предшественник ДНК, который включается.

В.И.КОРОГОДИН - Теперь мне стало ясно. Я хочу вот что по этому поводу сказать. Во-первых, для *HeLa D_o* примерно 180%-200% рентген, т.е. использованная вами доза - 1000-2000 рентген - это доза, при которой погибли бы давным давно все клетки *HeLa* не только в нашей лаборатории и у Александра Михайловича, но и во всех лабораториях мира. При этой дозе выживает десять в минус какой-то далекой степени. Во-вторых, ваш эффект был связан с торможением синтеза ДНК или с задержкой деления.

Ли еще в 1938 г. анализировал этот вопрос. Я на этом примере хочу показать применимость принципа попадания и мишени. Дело в том, что гибель клетки статистически возрастает с дозой,

т.е. с увеличением дозы увеличивается процент погибающих клеток. Задержка синтеза ДНК и задержка ДНК и задержка деления имеют совершенно другую количественную зависимость от дозы, а именно: уже при малых дозах во всех клетках примерно одинаковая задержка деления и задержка синтеза ДНК. При тех дозах, когда очень малый процент клеток погибает, у всех клеток есть некоторая задержка деления и синтеза ДНК.

С увеличением дозы процент погибающих клеток возрастает, а задержка синтеза ДНК и деления увеличивается по величине во всех 100% клеток популяции. Такой анализ показывает, что задержка деления и задержка синтеза ДНК, с одной стороны, и гибель клеток - с другой, связаны с поражением разных мишеней. Дуглас Эдвард Ли еще в 1938 г. на этом основании развил теорию кумулятивного действия излучений, применимую к задержке клеточного деления, и он писал, что, по-видимому, эти эффекты в значительной мере могут быть связаны с токсическими продуктами, возникающими во всей клетке в целом.

Это очень хороший пример, который привел Александр Михайлович. Он ясно показывает, что за разные эффекты могут быть ответственны повреждения разных структурных компонентов клетки. По-видимому, мы скоро будем близки к тому, что узнаем механизм деления и задержки синтеза ДНК. ДНК синтезируется ферментами. Когда просто перенести клетку из одной питательной среды в другую, будет некоторая задержка синтеза ДНК и задержка деления. Если нажать на кусочек клетки осколком покровного стекла, будет то же самое. И, конечно, то же будет после облучения, которое вызывает страшно противные изменения внутри клетки - там возникают разные токсические продукты. Этот

эффект неспецифичен. Я думаю, что в других эффектах облучения может быть другой удельный вес таких вот изменений, от 100% до 0, в зависимости от объекта, т.е. от генетической конституции объекта, от его пloidности, от удельной роли ядра и цитоплазмы в тех или иных регистрируемых реакциях на облучение.

А.Г. СВЕРДЛОВ - Мне думается, что сегодня накоплен достаточно большой материал по токсическому действию излучений на клетку, органы, системы органов и организм в целом, для того, чтобы поставленный вопрос получил утвердительный ответ. По-видимому, нужно вспомнить большое количество исследований, где был показан определенный вклад токсических влияний в генетические эффекты. Если Юлий Яковлевич вспомнил наши опыты, то он бы мог назвать цифру, когда в отдельных экспериментах мы имели довольно большой токсический эффект в отношении хромосомных aberrаций. Я думаю, что если у Юлия Яковлевича будут возражения, то он эти возражения сделает. Я хотел бы сказать, что, несомненно, генетические эффекты непосредственного действия радиации несопоставимы по величине, они значительно больше, чем эффекты, связанные с токсическими влияниями. Вместе с тем мне думается, что на подходе к анализу роли токсических влияний в поражении клетки сказывается то обстоятельство, что, в основном, поражение клеток изучается в культуре, изучаются отдельные клетки, представляющие собой микрокосм. И здесь мы волей-неволей основным определяющим критерием состояния этих клеток считаем их поражение, ведущее к гибели. Однако, если такое моделирование будет преследовать не единственную цель получения информации, о гибели или повреждении этих клеток, а будет иметь целью приближения к многоклеточному сложному орга-

низму, то, очевидно, надо учитывать и другие эффекты, и говорить о них не походя, а помнить, что в синдроме, который развивается у млекопитающих, находят лишь интегральное отражение те изменения, которые имеют место в клетках. В действительности синдром – это понятие клиническое, и вот как мы можем вычленить, допустим, дистанционные либо токсические эффекты, о которых нам вчера сообщали наши любезные хозяева Арутюнян, Хейфиц и др. в докладе об изменении гликогенного баланса клетки. Можем ли мы сказать, как в конечном синдроме реализуются подобные изменения? Не значит ли это, что если эти клетки не погибли, возникшие токсические изменения несущественны? Разве мы можем забыть о фагоцитарной функции лейкоцитов? Разве мы можем забыть о важнейших функциях нервных центров? А ведь это – клетки! Поэтому мне думается, что важно оценивать чрезвычайно многообразно те изменения, которые может внести токсическое влияние. Мне хотелось бы в связи с этим напомнить выполненную несколько лет назад работу Маозера и Александера, где было показано, что резкое возрастание ДНКазной активности в клетке селезенки и тимуса обязано в первую очередь дистанционному и, вероятно, токсическому влиянию. Мне хотелось бы в связи с этим вспомнить работы о том, что нарушение окислительного фосфорилирования митохондрий при облучении целостного организма возникают в значительной мере в результате гормональных воздействий. Мне хотелось бы привести в связи с этим нынешнее сообщение Эйдуса, который указывал на значительный вклад токсических влияний в опустошение кроветворной ткани. Мне кажется, что не следует противопоставлять гормональные эндокриальные влияния токсическим. У нас есть в радиобиологии, и это – достижение нашей отечествен-

ной радиобиологии, достаточно широкое определение понятия радиотоксинов, когда мы считаем токсическим все, что производит радиационное поражение. В этом плане то, что наблюдал Лазарь Хаймович, тоже является свидетельством токсического действия. Наконец, мы слышали реплику С.П.Ярмоненко, который обещал в скором времени показать, что при неравномерном облучении дистанционные или токсические влияния тоже существенны. Поэтому мне думается, что вопрос количественной оценки вклада токсических влияний - это весьма важный вопрос. Но вместе с тем, надо ясно отдавать себе отчет, что нельзя пользоваться только критерием гибели, нельзя пользоваться только критерием хромосомных aberrаций. Если, конечно, мы хотим оценить вклад этих факторов в поражение клетки, в поражение органа в условиях целостного организма, а это мне представляется наиболее интересной задачей.

Ю.Я.КЕРЖИС - Когда происходит такая свободная дискуссия, то неизбежно вопросы возникают не по порядку. Мне хотелось бы ответить Александру Михайловичу по поводу его опытов. Дело в том, что всякие факторы, и в том числе радиотоксины, могут, конечно, угнетать активность синтеза ДНК, но дело в том, что активность синтеза ДНК в первую очередь отражается на митотической активности, и нарушение активности синтеза ДНК совершенно не обязательно связано с повреждением генетических структур, эти вещи надо различать. И если я говорил об очень небольшом удельном весе генетических повреждений за счет радиотоксинов по сравнению с прямым облучением, то я имел в виду влияние радиотоксинов отнюдь не только на покоящиеся ядро, а во время всего митотического цикла, потому что сейчас, при современном

состоянии знаний, решать вопрос о влиянии любого фактора на генетические структуры следует только с учетом разных стадий митотического цикла, поскольку мы очень хорошо знаем различие в чувствительности разных стадий.

Я действительно могу подтвердить сейчас, что в наших экспериментах отдельные животные, как мы говорим, "выскакивали" и давали необычно большой эффект. Но мне кажется, что нашей первой задачей, решая эти вопросы, является установить истинное положение вещей. В этих случаях не стоит никогда особенно увлекаться вот такими "выскакиваниями" в отдельных экспериментах - неизвестно, откуда они могут получаться. Надо руководствоваться средними значениями. И, наконец, последнее, что мне хочется сказать. Я хочу повторить то, с чего я начал. Надо очень четко разбираться, о чем мы говорим. Если мы говорим о том, что, скажем, радиотоксины могут приводить к опустошению костного мозга, - это одно; если мы говорим, что радиотоксины могут приводить к опустошению семенных канальцев, - это другое, а, скажем, генетические эффекты радиотоксинов - это третье. Ведь практически это очень важно. Почему проблема прямого и непрямого действия радиации в смысле радиотоксинов нас так занимает? Потому, что это имеет большое практическое значение. Генетические эффекты радиотоксинов в связи с этим имеются, я подтверждаю это еще раз, потому что эти эффекты мы неоднократно видели в наших экспериментах, но они несравненно меньше тех, которые наблюдаются при прямых попаданиях.

Ю.Б. КУДРЯШОВ - Разрешите остановиться на ряде конкретных примеров, связанных непосредственно с первичными механизмами лучевого поражения и вторичными процессами. До настоящего вре-

мени вопрос о размене энергии физической на химическую при действии ядерных излучений на клетку и на организм остается еще мало выясненным. Николай Владимирович в свое время говорил о том, что, действительно, столь ничтожные энергии ионизирующей радиации, поглощаемой клеткой, вызывают очень сильный биологический эффект. Что отвечает за механизм усиления раз возникших изменений, приводящих в конечном итоге к гибели клетки? Каковы те пусковые механизмы, которые обеспечивают развитие цепи усиления поражения, приводящего в конечном итоге к глубочайшим поражениям клетки? На эти вопросы невозможно ответить без конкретного изучения нарушения процессов химических и биохимических. Тогда возникают и другие вопросы. Какие процессы могут обеспечить развитие лучевого поражения? Ведь на этот вопрос не дают ответа сторонники теории мишени, т.е. каковы пусковые запальные реакции, которые с большей вероятностью могут обеспечить механизмы усиления процессов поражения. Если говорить о первичных реакциях, то в большей мере следует говорить о реакциях окисления. В самой природе ионизирующей радиации лежит ионизация, т.е. процессы окисления, отрыва электрона от биологических субстратов, а затем нарушение окислительно-восстановительных реакций в клетке. В присутствии кислорода это - окислительные реакции. Возникает и другой вопрос, что может окисляться в клетке в первую очередь, в каких химических структурах могут разыгрываться эти первичные окислительные процессы, окислительные реакции. Хорошо известно, что такие субстраты должны иметь ненасыщенные связи, например, ненасыщенные жирные кислоты, фенолы и другие вещества. Я остановлюсь в своем выступлении только на процессах и реакциях, разыгры-

вающихся в ненасыщенных жирных кислотах.

На протяжении 15-летней работы большой группой на кафедре биофизики МГУ ведутся работы по изучению природы образования и биологической роли так называемых липидных радиотоксинов, возникающих при окислении ненасыщенных жирных кислот в процессе лучевого поражения организма и клетки. Сейчас совершенно четко можно сказать, что собой представляют эти вещества. Липидные радиотоксины - это лабильный комплекс перекисей, гипоксидов, альдегидов и кетонов, образующихся вследствие окислительных процессов ненасыщенных жирных кислот, т.е. высших ненасыщенных кислот, имеющих углеродный скелет от 14 до 22 углеродных атомов. Сейчас хорошо известно, что липидные радиотоксины образуются как при действии редкоионизирующей радиации, - гамма-, и рентгеновских лучей, так и протонов высоких энергий, а также при действии плотноионизирующей радиации, например, нейтронов деления. Хорошо известно, что липидные радиотоксины образуются в самых разнообразных клетках животных и растительных организмов, было найдено образование липидных радиотоксинов в радиочувствительных и радиорезистентных растительных объектах, у всех исследуемых животных, как лабораторных мышей, крыс и кроликах, так и у радиорезистентных объектах, таких как грызуны большая монгольская песчанка и другие объекты. Это уже широко известные экспериментальные данные. Максимальное количество липидных радиотоксинов накапливается в радиочувствительных органах и тканях, таких как тонкий кишечный, селезенка. Липидные радиотоксины образуются и в дрожжевых клетках, как радиочувствительных, так и радиорезистентных, гаплоидных и диплоидных клетках. Было обнаружено, что количество биологи-

чески активных липидных радиотоксинов возрастает при увеличении дозы радиации, и больше у менее радиорезистентных, таких, как галлоидные клетки. Липидные радиотоксины обладают широким спектром радиомиметического действия.

Мы говорили о том, что липидные радиотоксины играют ведущую роль в лучевом токсическом эффекте. Я не говорю о лучевом поражении вообще, а о лучевом токсическом эффекте, поскольку они вызывают образование других радиотоксинов, таких, как хиноны, как белковые радиотоксины, гистамины и другие токсические вещества. Они вызывают ряд морфологических изменений, о чем докладывал Александр Михайлович Кузин на настоящем симпозиуме, влияя на целостность мембран и ультраструктуры клеток. Липидные радиотоксины вызывают целый ряд биохимических и физиологических сдвигов, сходных с лучевым поражением. Только одно перечисление спектра действия липидных радиотоксинов заняло бы у нас много времени. Об этом имеется достаточное количество литературы.

Однако следует отметить два, по-видимому, дискуссионных вопроса. Первый. Следует отметить, что существует принципиальное различие между действием липидных радиотоксинов и ионизирующей радиации. Это различие касается, прежде всего, цитогенетического действия обоих факторов, т.е. наблюдается совершенно принципиальное отличие при действии ионизирующей радиации от введенных липидных радиотоксинов. Но мне кажется, что отличия эти связаны в большой мере с тем, что скорость проникновения липидных радиотоксинов в клетку мала по сравнению с действием ионизирующей радиации, ее одномоментным действием. И кроме того естественно, что только один химический агент не

может полностью воспроизвести все сложные лучевые нарушения. Это мы всегда отмечали в своих работах. И второе. Я хотел бы остановиться на вопросе, с которым я не совсем согласен. Следует остановиться, наконец, на попытках установить долю участия липидных радиотоксинов в лучевом поражении. Этот вопрос поставлен неправильно. Образование радиотоксинов - это процесс, связанный с окислительными реакциями. Как можно установить долю участия процессов окисления или фосфорилирования в нормальной жизнедеятельности клетки? Это невозможно. Эти, как и другие, процессы неразрывно связаны с жизнедеятельностью клетки. Так же трудно говорить и о доле участия образующихся радиотоксинов в лучевом поражении. Мы можем утверждать, что лучевой токсический эффект - это неотъемлемая часть острого лучевого поражения. Без этого звена, т.е. без лучевого токсического эффекта, не может осуществиться цепь патологических процессов, именуемая острым лучевым поражением.

В.И.КОРОГОДИН - Эта дискуссия продолжается уже на многих заседаниях, в частности, весной мы имели удовольствие обменяться мнением по этому поводу в Алма-Ате, - также по поводу роли радиотоксинов в лучевом поражении клетки и в лучевом поражении организма. Конечно, когда облученную мышь тошнит, то ее тошнит от того, что в ней накапливается всякая гадость, образующаяся благодаря действию излучения на клетки и накоплению всяких токсических, вредных для мыши, веществ. Но следует помнить, это происходит при очень больших дозах, когда подавляются условные рефлексы. Если же во времени одновременно протекает накопление в печени и в других органах токсических веществ, и в это же время у животного, которое не погибло, идет регенерация кост-

ного мозга, то вряд ли эти накапливающиеся вещества препятствуют регенерации. С другой стороны, если мы вводим в облученный организм, который обязательно погибнет, ничтожное количество костного мозга, и он выживет, то, следовательно, не эти токсические факторы его губят. Наконец, если кривая выживаемости клеток костного мозга одна и та же, когда клетки облучены в организме и вне организма, и когда облученные клетки введены в необлученный организм, а необлученные клетки введены в облученный организм, - а таких данных очень много, то это означает, что для гибели клетки токсины не играют существенной роли. Поэтому прошлый раз Александр Михайлович и согласился в Алма-Ате с моим мнением, что эндотоксины не губят клетки в облученном организме. Тогда речь шла только о стволовых клетках костного мозга, но нет сомнения, что они играют огромную роль в различных синдромах лучевого поражения. Если ввести крошечку костного мозга, и животное выживает, значит за этот феномен облучения - гибель животного - ответственна гибель клеток. Вот поэтому тогда и было предложено обсуждать роль токсинов, т.е. роль токсических изменений субстрата цитоплазмы, в гибели клетки.

А.М.КУЗИН - Вопрос дистанционного действия в организме и роль возникающих первичных радиотоксинов в облученной клетке, - это не однозначные вопросы, и поэтому костно-мозговая терапия абсолютно ничего не говорит о первичных механизмах, губящих те же самые стволовые клетки при их облучении. Ведь для этого надо, чтобы радиотоксины, образовавшиеся в стволовой клетке и достаточные, чтоб вложить свой существенный вклад в гибель данной клетки, вышли бы из этой клетки и накопились в таком

количестве в окружающей среде, чтобы спустя какое-то время поразить здоровые, введенные в организм, клетки. Это совершенно разные явления, для этого нужны разные дозы и разные условия, и когда мы повышаем дозу облучения, так в силу этих, а также и других, причин мы уже костно-мозговой терапией ничего сделать не можем. Таким образом, вот эти рассуждения о костно-мозговой терапии в облученной ткани не имеют ничего общего с ролью первичных радиотоксинов в облученной клетке, о чем и сегодня у нас идет речь.

А.М.КУЗИН - Четвертый вопрос: В чем основная причина радиочувствительности или радиорезистентности клетки? И, в качестве подвопросов, рассмотрим: роль SH -групп, репарации, объема хромосом и количества предшественников радиотоксинов. На нашем симпозиуме высказывалось мнение о том, что ведущая, или во всяком случае весьма значимая роль уровня сульфгидридных групп, и высказывались точки зрения, что различная радиочувствительность обуславливается в основном интенсивностью репарационных процессов. В литературе очень активно поддерживается точка зрения, что радиочувствительность клетки зависит от объема хромосом, напому хотя бы всем вам известные многочисленные исследования Сперроу и его группы. Мне кажется, что немаловажную роль в радиочувствительности клетки играет наличие в ней предшественников радиотоксинов, дающих при облучении клетки активно действующие радиотоксины. Возможны и интегрирующие точки зрения, что радиочувствительность столь сложное явление, что все эти причины принимают участие в определении общего интегрирующего понятия радиочувствительности. Может быть, возможны и какие-нибудь иные точки зрения. Во всяком

случае, это один из основных вопросов, который теснейшим образом связан с нашими представлениями о первичных процессах. Этот вопрос и ставится на обсуждение, и было бы очень интересно заслушать здесь точки зрения по этому поводу.

Под радиочувствительностью мы понимаем ответную реакцию клетки на радиацию. Мы сейчас рассматриваем поражающее действие радиации, а не все ответные, например, некоторые реакции, которые дают нервные клетки на очень малые дозы радиации: может быть, там механизмы будут другие. Давайте ограничимся поражающим действием радиации.

Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ - Я согласен с предыдущим выступавшим. Мне кажется, вопрос этот почти бессодержателен, и вот почему. В общей форме говорить о радиочувствительности клетки, по-моему, вещь бессодержательная, об этом можно долго разговаривать и ни о чем не договориться. Обыкновенно изучаются какие-то определенные реакции на облучение. Таковой может быть и гибель клетки, но смысл имеет, конечно, говорить о радиочувствительности по отношению к определенным наблюдаемым реакциям. При этом надо, однако, помнить, что такая однозначная реакция как гибель клетки, выражаясь медицински и технологически, на самом деле неоднозначна. Убить можно и клетку, и человека разными способами. Это первое, на что я хотел обратить ваше внимание.

Второе, говорить о радиочувствительности клетки, некой обобщенной клетки, опять-таки довольно бессодержательная вещь. Из общей суммы радиобиологических опытов мы знаем, что разные клетки могут различаться по радиочувствительности, в смысле их гибели, по дозам на 3 порядка величин. Есть клетки,

которые гибнут в достаточном проценте, если их облучить сотнями килорентген, а есть клетки, которые в таком же проценте гибнут, ежели облучить их сотнями рентген. Следовательно, говорить о радиочувствительности клетки, мне кажется, бессодержательное занятие. Есть одно такое эмпирическое обобщение, которое можно сделать из общей суммы радиобиологических опытов и наблюдений. Мы имеем минимум три, если говорить о поражающем, ведущем в конечном счете к гибели, эффекте, три типа клеток, особо различающихся по радиочувствительности. Во-первых, это делящиеся клетки; по понятным причинам тонкий сложный механизм митоза легче повредить и, тем самым, создать ненормальную череду клеточных поколений, когда большое число потомков клеток с поврежденными митозами будут повреждены настолько, что начнут гибнуть. Во-вторых, и это связано с последними работами, в частности, Д.В.Корогодинов, это - интерфазная гибель клеток; тут намечается любопытное эмпирическое обобщение, что, по-видимому, клетки неделящиеся, но находящиеся в фазе интенсивной тканевой специализации, являются более радиочувствительными, чем клетки уже специализированные, или клетки до начала интенсивной фазо-тканевой специализации. В клетке имеется ряд специфических процессов, нарушение которых, подчас даже очень незначительное, может повести, выражаясь кибернетически, к ерунде. И, наконец, можно сказать, что клетки, находящиеся в состоянии метаболического покоя, в той или иной степени радиорезистентнее таких же клеток, находящихся в фазах интенсивного метаболизма. Мне кажется, это понятная вещь. Дело в том, что клетки, находящиеся в состоянии покоя, например в семенах растений, могут обходиться в течение долгого

времени без нужных механизмов метаболизма, которые иницируются всегда какими-то внутриклеточными управляющими системами, а при постепенном их оживлении происходит набухание, наклеивание и прорастание покоящихся семян высших растений, многих спор и т.д.

Процесс метаболизации клеток проходит постепенно, и в этом процессе, может быть, имеет место восстановление недостающих в результате повреждения внутриклеточных частных управляющих систем, которые потом в состоянии справляться с нормальным темпом и типом внутриклеточного метаболизма. Я бы сказал, что обзор результатов радиобиологических исследований только и позволяет сделать подобного рода общие эмпирические обобщения. Рассуждать же очень сильно, учено, о причинах радиорезистентности клетки, повторяю, не столько бесцельный, сколько беспредметный вопрос. Он лишен предмета обсуждения.

А.М.КУЗИН - С Вами не совсем можно согласиться только в одном. Вы сейчас очень справедливо заметили, что одни клетки гибнут при 100 Р, а другие - при 100 тыс.Р. Так вот предмет сегодняшнего вопроса и заключается в том, почему это происходит. И те, и другие клетки гибнут в процессе деления, в процессе метаболизма, но при столь различных дозах. Это вопрос очень существенный и его, может быть, не беспредметно обсудить.

Н.В.ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ - Беспредметным он остается, мне кажется, если не сформулировать вопроса о том, о каких лучевых реакциях идет речь. Если мы будем говорить о гибели клеток - великолепно! Тогда, мне кажется, что то, что мы сейчас можем сказать, это вот высказать, - я не ручаюсь, что я это делал достаточно полно, - несколько таких эмпирических обобщений,

которые я позволил себе высказать. А конкретные отдельные случаи будут, очень и очень различные, и это – предмет специального исследования для людей, у которых есть вкус к такого рода исследованиям.

Ю.Я.КЕРЖИС – Я думаю, что была бы вполне предметной и очень полезной дискуссия о причинах, обуславливающих различия в радиочувствительности или радиорезистентности наследственных структур, именно наследственных структур. И тут мне хотелось бы заранее высказать свою точку зрения специально для того, чтобы несколько раздражить аудиторию, и чтоб по этому поводу высказались, так как мы в этой области мало знаем. Единственное, что мы можем предполагать, это две возможные причины. Первая возможная причина – различие радиочувствительности, подчеркиваю, наследственных структур. Это какие-то различия в молекулярном строении облучаемого субстрата. Я не знаю, можно ли представить себе, что таковое может быть причиной различия в радиочувствительности, или нет. Мне неизвестно сколько-нибудь серьезных работ, которые доказывали бы, что да, могут быть первичные изначальные различия в радиочувствительности. Второе – это гипотеза о наличии некоторых репарационных или восстановительных систем, генетически обусловленных. Почему генетически обусловленных? Потому, что мы знаем, что радиочувствительность – это генетически обусловленные признаки. Может быть, играет также роль способность этих репарационных систем повреждаться под влиянием различных воздействий. На нашем симпозиуме были высказывания, что в литературе имеется очень большой материал в пользу существования этих репарационных систем. Раздаются иногда отдельные высказывания, что эта гипотеза не выдерживает

критики.

Мне кажется, что сегодня – это единственная гипотеза, которая помогает нам в какой-то мере понять причины в различии радиочувствительности наследственных структур. Моя личная точка зрения сводится к тому, что такие восстановительные системы имеются. Я не вижу причины, почему эти системы не могли бы повреждаться, даже если сегодня мы еще не имеем опытов, доказывающих совершенно однозначно возможность таких повреждений. И я не исключаю возможности, что, может быть, могут быть различия, обусловленные структурными различиями в облучаемом субстрате. Я был бы очень рад, если бы в последующих высказываниях коллеги остановились на этих вопросах.

Л.А. КАМАЛЯН – Я заранее извиняюсь, если мое выступление уведет дискуссию несколько в сторону от прямого пути. Но я хочу говорить с точки зрения той проблемы, которой я занимаюсь. Но эта проблема, мне кажется, тоже связана с радиочувствительностью клетки. Когда мы говорим о радиочувствительности клетки и о тех механизмах, которые прежде всего ответственны за нее, мне кажется, что тут может быть много подходов и путей к изучению. В частности, исследование тех биологических и химических агентов, которые могут менять радиочувствительность клетки, также проливает свет на механизмы этой радиочувствительности. Я не хочу останавливаться на том огромном материале, который накоплен в области иммунорадиобиологии и который доказывает существование конкурентных взаимоотношений между действием антигенов и действием ионизирующей радиации. Я хочу сослаться, в основном, на наши опыты, которые показали, что вирусные антигены, и в частности противовирусная вакцина,

исследуемая нами, может значительно повысить радиорезистентность организма, причем это изменение радиочувствительности имеет место в течение первых же суток и достигает наибольшей высоты в течение определенного промежутка между предварительным воздействием вакцинации и последующим действием ионизирующей радиации. Я хочу говорить не об общих иммунологических перестройках, которые производит вакцина и которые, конечно, делают иммунный организм совершенно иным по отношению к ионизирующей радиации. Я хочу говорить о клеточных аспектах этой проблемы. В наших опытах было показано, что иммунное животное, в организме которого, в частности, в органах, лимфоцитах, произошла значительная перестройка под влиянием антигенного воздействия, вирусная вакцина приживляется в лимфоидных органах, и она длительное время обнаруживается, вызывая довольно интенсивную плазматическую реакцию. Согласно последним воззрениям иммуноморфологии, там формируются новые клоны клеток, которые не только иммунны, но и позволяют организму бороться против этого вируса, и они, по-видимому, изменяют и клетку в целом. Так, в частности, в опытах, где мы воздействовали на иммунный организм ионизирующей радиацией, мы получали значительно меньше повреждений лимфоидной ткани и, в частности, лимфоцитов, которые, как известно, являются наиболее радиочувствительными клетками. Вот в свете этих данных, и учитывая те большие достижения молекулярной биологии вирусов, которые во многом раскрыли те пути, при помощи которых вирус клетки направляет ее геном в сторону репродукции своих собственных частей, я хочу выразить свое мнение, что считаю весьма целесообразным изучение лимфоцитов при культивировании лимфоидной ткани вне орга-

низма, т.е. реакции лимфоидной ткани не иммунизированного организма на ионизирующую радиацию, и реакцию лимфоидной ткани иммунного организма на ту же ионизирующую реакцию. Может быть, изучение причин в меньшей степени повреждения иммунных лимфоидных клеток можно будет связать с созданием в них клона иммунокомпетентных клеток, хранителей иммунологической памяти, и этот путь позволит в определенной мере выяснить некоторые механизмы радиочувствительности, т.е. такие изменения в геноме клетки, вызываемые вирусом, которые делают клетку менее чувствительной к действию ионизирующей радиации.

С.П.ЯРМОНЕНКО - Я хотел бы продолжить мысль предыдущей выступающей, потому что она прямо говорила в том направлении, в каком следует. Один из путей, по-моему, совершенно адекватный для решения того вопроса, который мы сегодня не решим, но который решить нужно, связан с тем, чтобы подобрать наиболее адекватный путь изучения этого явления, т.е. изучения природы радиочувствительности. Очевидно, одним из таких путей является нахождение наиболее корректного способа произвольного или искусственного варьирования радиочувствительности. И тогда, если будут находиться какие-то корреляции между тем, что мы пытаемся изменить, и ожидаем вследствие этого получить соответствующий ответ, тогда с известной долей вероятности, хотя неоднозначно, можно думать, что мы находимся на правильном пути. И в этом отношении мне представляется вполне уместным и очень заслуживающим всякого внимания развитие тех исследований, которые у нас в стране проводятся в лаборатории Граевского и в целом ряде других лабораторий. В частности, здесь присутствует доктор Ревес, который со своими учениками интенсивно занимается

этим же. мы не обсуждали доклад, представленный здесь Граевским, и сегодня имело бы смысл подвергнуть дискуссии именно эту сторону. Целый ряд данных, представленных в этом докладе, свидетельствует о том, что, действительно, произвольно варьируемый уровень эндогенных тиолов отвечает в значительной степени за те возможные вариации радиочувствительности данной конкретной клеточной популяции, которая изучается. Здесь Николай Владимирович говорил, что, действительно, не имеет смысла говорить о любой радиочувствительности. С другой стороны, если избрать совершенно определенный критерий, то этот разговор будет предметен. Если мы занимаемся вопросами изучения радиочувствительности клеток костного мозга, признавая, что в определенном диапазоне доз именно они ответственны за исход поражения животных, и вряд-ли сегодня этот вопрос может подлежать дискуссии, не вникая в механизм этого явления и, во всяком случае, феноменологически это несомненно так, - то, вероятно, нас должен интересовать вопрос, как можно повысить радиорезистентность или снизить радиочувствительность именно этих клеток костного мозга, отвечающих за исход поражения. То обстоятельство, что целый ряд данных, приведенных в этом докладе Граевского и в работах упомянутых исследователей, о которых я говорил, свидетельствуют о том, что, наверное, это направление плодотворно. Даже если окажется, что причина природы радиочувствительности где-то рядом, а не непосредственно в области тиолов, то и в этом случае эта гипотеза даст возможность поставить направленные эксперименты, которые позволили бы подтвердить ее справедливость или, может быть, найти что-то новое. Обсуждая конкретные факты, я хотел бы остановиться еще

на одном заключении. Возникает всегда вопрос, какова природа эндогенных тиолов. Действительно, это достаточно сложная вещь, потому что, несмотря на то, что мы и много, и в то же время очень мало, знаем относительно конкретных биохимических ситуаций, возникающих или происходящих всегда в постоянно метаболизирующей клетке, особенно еще в условиях какого-то дополнительного воздействия, трудно представить себе, что вдруг откуда-то появляется источник такого типа тиолов, т.е. речь может идти либо, в случае белковых тиолов, о синтезе белка, либо, если говорить о кислоторастворимых тиолах, возникающих эндогенно, то тогда надо представить себе, что это происходит за счет каких-то нарушений конформационных структур, приводящих к освобождению таких дополнительных эндогенных тиолов. Мне кажется, что по первому вопросу есть основания думать, что возможность ускоренного синтеза белка, содержащего тиоловые группы, вполне реальна. Это было показано работами Г.С.Календо из лаборатории А.М.Кузина, а сейчас она продолжает эти работы в нашей лаборатории, изучая влияние непосредственно модифицирующих агентов. Оказывается, что клетка действительно в состоянии в очень короткие сроки ускорять метаболизм именно в сторону увеличения синтеза белка. Если это действительно так, и если при этом синтезируется тиол-содержащий белок, — кстати говоря, определенные фракции гистонов действительно содержат тиолы и, наверное, они весьма существенны для коррекции радиочувствительности клетки, — то это один из тех путей, которые покажут, к сожалению, узкий предел возможности варьирования радиочувствительности; но ведь мы не знаем ничего более широкого. Действительно, возможность искусственного варьирования радиочувствитель-

ности очень узка. Мне хотелось бы привлечь внимание к обсуждению этой гипотезы и выслушать все, что говорит в ее пользу, а также и противоречия в ней, поскольку она заслуживает внимания и ею занимается много лабораторий.

С.Б.БАЛМУХАНОВ - Имеется много факторов, оказывающих влияние на радиочувствительность, по крайней мере опухолевых клеток. Я приведу несколько примеров из наших экспериментов. Речь идет о сульфгидрильных соединениях. Не во всех случаях увеличение содержания сульфгидрилов соответствует изменению радиочувствительности. Я повторяю, радиочувствительность, по прививаемости, связана, наверное, не только с сульфгидрилами. Определение клетки мы облучали, прививали, и получили таким образом новую радиорезистентную опухоль. И действительно, такая опухоль содержит повышенное количество сульфгидрилов. Однако, когда мы проверили изменение сульфгидрилов в течение роста опухоли, на 4-ый, 9-ый, 10-ый, 16-ый дни роста, содержание сульфгидрилов оказалось подвержено значительным колебаниям. Эти колебания в какой-то степени иногда совпадают, иногда не совпадают с радиочувствительностью. Тогда мы параллельно провели исследования по выходу калия, калия-натрия в опухолевых клетках и суспензиях, и оказалось, что и здесь существует определенная корреляция. Таким образом, 1 - сульфгидрилы, 2 - гистидин, 3 - нарушение равновесия калия-натрия в опухолевых клетках под действием облучения, так что имеется уже несколько факторов. Затем проверили опыты А.М.Кузина с Тринчером с облучением в пробирке в своей жидкости, потом - с разведенной глюкозой, проверили асцитные опухоли печени крыс. В разные дни роста, когда чувствительность колеблется, генетический аппарат не меняется. Если

первичная чувствительность обусловлена генетическим аппаратом, то вот такое колебание чувствительности не зависит от генетического аппарата. Надо полагать, есть какой-то другой влияющий фактор. Между тем, чувствительность может колебаться в пределах 2-4 раза. При повторении опытов оказалось, что до определенного периода роста опухолевых клеток происходит усиление или замедление способности мембран или всей клетки аккумулировать не только натрий и калий, но также глюкозу и прочие вещи. Таким образом, во многих опытах с разведением, наверное, работает тот же фактор. Когда разводят на поверхности белковые образования, они изолируются, исчезают, или мы их смываем и делаем клетки беззащитными. В этих опытах, по-видимому, тоже не учитывается возможность того, что мы наносим механические повреждения клеткам. По-видимому, в первичной обусловленной клетке действует аппарат, существует ряд механизмов, на уровне биохимических, которые могут оказаться весьма ответственным, поэтому приписывать главную роль одним сульфгидридам, только гистидину или чему-то еще - преждевременно. Одним из таких моментов, на наш взгляд, является состояние мембран, которые меняются изо дня в день в зависимости от других функциональных состояний. Если будем учитывать другие факторы, наверное, можно получить такие же данные.

П.Ф. МИНАЕВ - При наличии столь многих теорий и принципов такая животрепещущая проблема, как радиочувствительность, почти не решена. Я имею в виду и принцип попадания, и принцип мишени, и освобождение ферментов, сколько этих теорий, и все-таки этот вопрос остается мало изученным и даже, по выражению некоторых, беспредметным. А ведь в клинике проблема радиочувстви-

тельности является очень звучной. Как-то в одной из московских клиник я докладывал о своих работах, я работаю с нервной системой, и когда рассказал клиницистам о тех данных, которые мы получили, то они сказали: "А что же вы нового сказали? Мы так и делаем, что вы получили, т.е. мы у больных перед облучением стараемся поднять жизненный тонус, т.е. создаем максимально оптимальные условия. И после облучения тоже так, а не держим людей на водопроводной воде, как это имеет место с дрожжами".

Позвольте после этих предисловий перейти к существу моего высказывания. Прежде всего, что же такое радиочувствительность? Здесь не сделано и попытки определить, что такое радиочувствительность. Мы в свое время применительно к нервной системе дали такое определение, что это – сложный биологический процесс, в котором существенными компонентами являются физико-химические и биохимические факторы. Что этот процесс радиочувствительности имеет две стороны: радиочувствительность и радиостойчивость. Я не буду сейчас подробно касаться того, что этот процесс единый, и что мы показали, что в основе радиочувствительности нервной системы, в ответе нервной системы, лежат определенные звенья биохимических процессов. Мы приходим к выводу о том, что одна из причин действия ионизирующей радиации, и одна из причин, ответственных за радиочувствительность нервных клеток, это прежде всего процессы окисления. Теперь мы подойдем к вопросу, который поставлен был, что ответственно за радиочувствительность: сульфгидрильные группы, кислородный эффект и т.д. Много всяких факторов изучено, и вот какой итог. Если мы будем накапливать эти факты, то это носит не характер решения проблемы, а характер просто инвентариза-

ции, перечисления. Все-таки из всех факторов какой же является ведущим? По нашему исследованию, и по другим данным, особенно для нервных клеток, одной из решающих причин изменения радиочувствительности является состояние окислительных процессов. Мы это показали с помощью ферментных ядов, нарушающих окислительные процессы, когда радиочувствительность нервной ткани удалось повысить в 6-7 раз. Эти данные опубликованы. В то же время, защищая окислительные процессы от повреждающего действия ионизирующей радиации, нам удалось повысить радиорезистентность. Я не хочу этим сказать, что эти опыты с модифицированием радиочувствительности являются решающими; нет, они являются подсобными как и все модельные опыты в биологических исследованиях, они могут тогда иметь значение, когда не теряется аспект биологического исследования. И последнее, на чем я хотел остановиться, возвращаясь к первому вопросу, - что проблема радиочувствительности прежде всего является проблемой биологической. Мне кажется, что изучение радиочувствительности является насущным, иначе я не представляю, для чего то огромное количество исследований мы проводим, если мы не можем хотя бы подойти к решению этой проблемы. Я думаю, что, учитывая гетерогенность клетки и уже, конечно, гетерогенность всего организма, путь исследования должен быть комплексным. Изучать с разных сторон различные процессы: физико-химические, биохимические и физиологические, но обязательно по приоритетам биологических процессов.

Д.Ф.СЕМЕНОВ - В начале обсуждения этой проблемы был поставлен вопрос о законности обсуждения радиочувствительности. Приятно слышать, что все выступавшие ораторы отмечали несом-

ненную плодотворность обсуждения этого вопроса. Действительно, почему нельзя говорить о радиочувствительности даже в узком смысле поражения клетки или организма в целом? Даже если брать за критерий только их гибель, то и организм, и отдельная клетка может погибать или не погибать при данной дозе радиации в зависимости от изменения их состояния. И естественно, что это и есть проблема радиочувствительности. Если мы на нашем симпозиуме касаемся главным образом вопроса клеточной радиочувствительности, клеточной гибели, то и в этом смысле можно сказать, что применение тех или иных воздействий может изменять радиочувствительность или поражаемость данной клеточной популяции. Так, например, аноксическое воздействие, примененное либо к клеткам *in vitro*, либо к организму в целом, может изменять чувствительность этих клеток *in vitro*, или, скажем, клеток костного мозга *in vivo*. В настоящее время мы имеем огромное количество фактического материала, который свидетельствует о том, что применение различных биологически активных аминов меняет радиочувствительность, допустим, клеток костномозговой популяции. Мы имеем большое количество фактов о том, что различные тиосоединения могут изменять радиочувствительность клеток кишечного эпителия. Это, несомненно, существенный фактор, тот материал, в котором уже нельзя сомневаться. Конечно, вопрос о механизме действия этих средств, изменяющих радиочувствительность, более сложный. На данном симпозиуме обсуждалась одна очень интересная гипотеза об образовании эндогенных сульфгидрильных групп при действии различных защитных соединений. Эта гипотеза очень импонирует тем, что она пытается объединить, найти общий механизм действия самых разных протекторов — анок-

сических агентов, аминных радиопротекторов, тиоловых радиопротекторов. Это - гипотеза, которая разрабатывается у нас в стране в лаборатории Э.Я.Граевского, а за рубежом коллективом Ревеса. Эта гипотеза необычайно интересная и, как мне кажется, плодотворная. Мне, со своей стороны, хотелось задать такой вопрос товарищам, выступавшим с фактами в этой области. Как все-таки они себе представляют и как они интерпретируют факты, полученные ими? Дело в том, что абсолютное количество накопленных сульфгидрильных соединений бывает недостаточно велико. Идет ли речь все-таки о том, что в ткани накапливается такое количество сульфгидрильных соединений, которое они считают достаточным для обезвреживания образующихся ионов и радикалов, или речь идет главным образом о перераспределении внутри клеток этого материала, который при данном удачном распределении становится эффективным и осуществляет защиту. Дело в том, что получить убедительное количество прироста сульфгидрильных соединений в тканях не всегда удается. Вот выступавший от группы Граевского доктор Тарасенко тоже не во всех случаях действия радиопротекторов видел увеличение количества сульфгидрильных групп. Мне хочется добавить, что и нам, к сожалению, не удалось методом амперметрического титрования найти убедительный прирост сульфгидрильных групп при действии ряда аминных радиопротекторов. Было бы интересно знать, в чем мы ошибаемся, найти точку соприкосновения, выяснить, потому что, как мне кажется, эта гипотеза является очень плодотворной и нуждается в тщательной экспериментальной проверке и экспериментальном ее разрешении.

В.П.ПАРИБОК - Задача определения тех факторов, которые влияют на радиочувствительность клетки или на обратную величину - резистентность, может быть облегчена, если мы поставим альтернативную задачу - исключить те факторы, которые не влияют на эти параметры. В этом случае мы окажемся в удобном положении. Нам сразу будет ясно, какие факторы мы не сможем исключить. Начну, например, с такого фактора, вопрос о котором был поставлен на дискуссии несколько раньше, - с суммарного объема хромосом. Я имею в виду результаты тех многочисленных и хорошо обоснованных измерений, которые были опубликованы группой Сперроу.

Если мы не можем игнорировать роли $5H$ -групп в компенсации тех первичных радиационно-химических изменений, которые происходят в клетке, то мне кажется совершенно очевидным, что мы должны выяснять роль остальных процессов при прочих равных условиях, т.е. при равном количестве эндогенных или экзогенных сульфгидрильных групп, как, например, делалось в одной из работ нашей лаборатории, когда сравнивалась радиорезистентность разных штаммов бактерий и было специально выяснено, что уровень $5H$ -групп у этих штаммов не различается. Тогда уже можно переходить ко всему остальному, к остальным факторам. Из числа факторов, которые не играют роли в радиорезистентности, нужно исключить фактор способности клетки репарировать лучевые повреждения. Я не буду подробно приводить аргументацию, потому что мы это обсуждали, но вкратце вопрос сводится к следующему. По крайней мере на бактериальных клетках отчетливо показано, что гибель клетки, летальный эффект, определяется повреждением генетической структуры, хотя бы потому, что при замещении ти-

мина в ДНК 5бром-урацилом резко увеличивается чувствительность клеток как к ультрафиолетовому, так и к ионизирующему излучению. Если изучать репарацию только путем варьирования пострадиационных условий, то мы всегда остаемся в неведении: является ли лучшее выживание клеток на одной среде по сравнению с другой результатом лучшей репарации или же результатом отсутствия дополнительного повреждения. Но если вместе с этим мы имеем возможность количественно регистрировать число первичных повреждений в ДНК, возникающих в тех или иных условиях, или у того или иного штамма, и обнаружим, что у этого штамма много первичных повреждений, но на данной среде они элиминируются, а у другого штамма первичных повреждений столько же, но в данных условиях они не элиминируются и первый штамм оказывается более радиорезистентным, чем второй, то у нас нет другого выхода, как признать, что способность данного штамма элиминировать повреждения является важным фактором его радиорезистентности. С нашей стороны было бы легкомысленно априорно отрицать значение каких бы то ни было других факторов, участвующих в радиорезистентности клетки. Но мы утверждаем, что при прочих равных условиях способность клетки репарировать повреждения генетических структур существенна для ее радиорезистентности. К сожалению, я должен сказать в ответ на то предложение, с которым к нам обратился один из радиобиологов Еревана, что наши возможности управления радиорезистентностью клетки через репарацию очень ограничены. Мы очень легко можем ухудшить, напортить дело, т.е. мы можем ослабить возможность клетки репарировать лучевое повреждение с помощью ряда более или менее специфически действующих ядов, но возможности стимуляции

репарационного процесса сколько-нибудь достоверной я не знаю. Это является важной задачей дальнейших экспериментов. Но роль репарационного процесса в радиорезистентности при прочих равных условиях у нас не вызывает сомнений.

М.М.КОНСТАНТИНОВА - В докладе, который мы представили на этом симпозиуме, были приведены аргументы в пользу тех представлений, которые развиваются Граевским и его сотрудниками. Прежде всего основанием для такого заключения послужили наши данные о корреляции между естественной радиочувствительностью и уровнем белковых тиолов в клетках кроветворной системы, и что пожалуй наиболее важно, это данные о том, что направленные изменения радиочувствительности с помощью радиопротекторов или радиосенсибилизаторов приводят к изменению в ожидаемом направлении и уровня тиолов. Прежде всего, хочется сразу оговориться, что всю величину радиочувствительности или различие в радиочувствительности, присущей разным объектам, стоящим далеко в систематическом отношении, не следует относить и связывать с уровнем в них тиолов. Конечно, такие факторы, как характер строения ДНК, особенности жизнедеятельности клетки, плоидность клетки, все эти факторы определяют ее радиочувствительность. Но в тех вариациях радиочувствительности, которые присущи клеткам и системам, близким в генетическом отношении, уровень тиолов, нам кажется, может играть существенную роль, хотя, конечно, в других случаях, о которых я говорила, радиочувствительность не определяется уровнем тиолов. Я говорила о том, что наиболее убедительным нам казались те наши данные, где мы, направленно изменяя уровень тиолов, получаем соответственное изменение радиочувствительности.

Мне хотелось бы несколько слов сказать о выступлении проф. Балмуханова. Конечно, можно было бы с вами согласиться в том, что такие параметры, как изменение отношения натрия-калия, или изменения уровня аминокислот, могут влиять на определение радиочувствительности. Но нас интересует в первую очередь ваше замечание относительно уровня тиолов. Вы подчеркнули, что в некоторых ваших данных есть соответствие между изменением радиочувствительности, в частности, резистентностью, приобретенной в результате облучения, и отсутствуют такие данные при возрастных изменениях радиочувствительности. Я пытаюсь обратиться к вам с вопросом и выяснить условия эксперимента, в которых были получены эти результаты, чтобы понять причины этих различий. Надо сказать, что и возрастные изменения, или изменения радиочувствительности с возрастом, или изменение радиочувствительности в клетках в ходе митоза, хорошо коррелируют с изменением уровня тиолов. Такие данные были получены в нашей лаборатории, они были представлены здесь перед вами, когда изменение чувствительности клетки в процессе деления хорошо коррелирует с изменением уровня тиолов в бластомерах. Такие же данные были получены другими исследователями.

Мне хотелось бы также ответить на вопрос, который задал Л.Ф.Семенов. В ваших опытах вы не получили изменения уровня тиолов при воздействии аминных протекторов. Вы видели, что в наших опытах при определении уровня сульфгидрильных групп методом амперметрическим мы также не получили повышения уровня тиолов. Однако при определении уровня тиолов непосредственно в кровяных клетках, состояние которых определяет жизнеспособность животных, мы получили увеличение белковых тиолов,

причем это увеличение было весьма значительным. Я думаю, что в данном случае особенность действия этих протекторов на сосудистую систему так меняет ее состояние, что, по-видимому, метод амперметрии в данном случае просто не может дать ответа. Ваше замечание о том, что то изменение уровня тиолов, которое мы наблюдаем, весьма невелико, и его трудно, по-видимому, связать с изменением радиочувствительности. Мне бы хотелось на этот вопрос ответить так, что, по-видимому, мы ведь мерим суммарное изменение тиолов, и это суммарное изменение - уменьшение и повышение этого уровня - идет неравномерно во всех структурах клетки и не во всех структурах клетки содержатся тиолы. Поэтому можно думать, что увеличение и изменение уровня тиолов играет главным образом роль в тех структурах, от поражения которых зависит и данный изучаемый показатель. Эмануэль Яковлевич, который представил эту гипотезу, и все мы, работающие вместе с ним, очень благодарны за все замечания, которые делаются, и только хотелось бы, если есть не соответствующие гипотезе данные, знать конкретный характер их получения, с тем, чтобы мы могли проанализировать эти материалы.

Л. РЕВЕС - Я многому научился на этой дискуссии, и один из наиболее важных выводов, к которому я пришел, - то, что есть, очевидно, много факторов, которые очень важны в определении радиочувствительности клеток. Нет одного определенного фактора, например гена или хромосомы, но возможно, все они вносят вклад в определение чувствительности. Каким образом вносится этот вклад? Одно из впечатлений, которое я получил, это то, что мы имеем много факторов. И я сожалею, что я не могу разделить идею одного из ораторов, который видит будущий прогресс в

больших машинах, новых аппаратах. Я думаю, что в первую очередь мы будем нуждаться в новых идеях. Мы имеем уже большое количество фактов, полученными со всеми нашими аппаратами, и если такие эксперименты надежны, то мы имеем много фактов, которые не в состоянии объяснить.

Итак, мы больше нуждаемся в новых гипотезах и новых идеях, чем в новых аппаратах. Я не имею ничего против аппаратов, но если говорить о степени важности, то новые идеи я бы предпочел новым аналитическим машинам.

Я думаю, ценность новой концепции в том, в какой степени она может содействовать новым экспериментам будущего. Если теория мишени и попадания или идея токсинов полезны в смысле постановки новых вопросов, тогда неважно, называть ли их теорией токсинов, мишени или попадания, так как их значение состоит в том, что мы можем получать новые данные и сформулировать новые гипотезы.

Я бы не хотел отнимать у вас время, но когда мы обсуждали здесь токсины и радиочувствительность, я придумал один пример. Пусть я не знаю, какой из двух органов был облучен, один или второй, оба органа начинают расти. Давайте рассмотрим, какой орган был облучен. В другом опыте мы облучаем оба органа в одном организме. В третьем опыте мы облучаем в организме только один орган, и видим, что второй орган начинает уменьшаться. Или другой пример: мы облучали не орган, а одну опухоль на одной стороне тела, а другая опухоль, которую экранировали, начинает уменьшаться. Мы могли бы облучить один орган, а второй орган начнет расти. Мы можем говорить о чем-то, давайте назовем это не "токсин", потому что необлученный орган начи-

нает расти, но это что-то, что облученный орган выделяет, стимулирует рост этого другого органа. Эта идея, которую можно иметь в виду и пойти дальше, стараясь доказать или опровергнуть эту идею, и так до тех пор, пока не удастся понять, что если орган, который мы облучаем, приостанавливает образование каких-то гормонов (например, этот орган - гипофиз), то это и будет влиять на рост или задержку роста другого органа.

До какой степени это прямой или не прямой эффект радиации? Вы можете сами сделать вывод. Пусть эти органы - костный мозг и тимус. При облучении костного мозга тимус экранирован, но его клетки исчезают. Вывод, который мы можем сделать: что-то выделяется или освобождается, какой-то радиопродукт, который приводит к уменьшению объема тимуса. Но мы знаем, что клетки тимуса перенаселяют вещество костного мозга. Следовательно, опустошение тимуса происходит не потому, что облучение имеет не прямой эффект, но потому, что клетки из облученного костного мозга не поступают в тимус. Случай, когда мы облучаем опухоль с одной стороны и неожиданно обнаруживаем, что опухоль на другой стороне исчезает, тоже позволяет думать, что из облученной опухоли что-то выделяется, но, если рассматривать экспериментальную ситуацию, то можно обнаружить, что вторая опухоль была гомотрансплантом, и хозяин производил антитела, но пока были две опухоли, эти антитела не могли убить обе опухоли, когда же мы облучаем одну опухоль, тогда антитела образуются в большей концентрации и их становится достаточно, чтобы убить и вторую опухоль.

Я хотел показать на этих примерах, где гипофиз начинает расти, когда не имеется больше ингибирования; где тимус начи-

нает уменьшаться, когда он не репопулируется, и где одна опухоль исчезает, когда другая облучена, в виду иммунологического механизма, что так называемые "дистанционные эффекты" не всегда могут быть связаны с радиотоксинами. Таким образом, пока мы не знаем, что тимус репопулируется из костного мозга, идея, которая говорит, что костный мозг выделяет какое-то ингибирующее вещество, хороша. С другой стороны, накапливая данные, мы находим, что это - не так. Мы принимаем новую идею, и она может объяснить наш результат. Фактически это - один из многих возможных примеров. Я рассмотрел эти три случая, чтобы показать, что непрямой эффект радиации может иметь в различных случаях различную подоплеку. И, возможно, на клеточном уровне мы можем иметь подобные ситуации. Я хотел бы повторить мое основное заключение, что мы больше нуждаемся в новых гипотезах, новых идеях, чем в новых фактах. Мы уже имеем много фактов, и только новые идеи будут стимулировать новые эксперименты, дающие возможность получать те новые факты, которых нам недостает.

МАТЕРИАЛЫ П МЕЖДУНАРОДНОГО СИМПОЗИУМА ПО
ПЕРВИЧНЫМ И НАЧАЛЬНЫМ МЕХАНИЗМАМ БИОЛОГИЧЕСКОГО
ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКУ

Технический редактор А.С. Абрамян

Подписано в печать 24/УП-89г. ВФ-04016 Формат 60x84/16

Офсетная печать. Уч. изд. л. 5,5 Тираж 500 экз. Ц. Гр. 90к.

Заказ тип. № 1195

Индекс 3649

Отпечатано в Ереванском физическом институте

Ереван 36, ул. Братьев Аликханян, 2

Цена Гр. 90к.

ИНДЕКС 3649



ЕРЕВАНСКИЙ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ