ISSN 0033-8192

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

РАДИОБИОЛОГИЯ

ТОМ
31
ВЫПУСК
4

«НАУКА»
1991

РАДИОБИОЛОГИЯ

т. 31 1991 вып. 4

IV ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ Н.В.ТИМОФЕЕВА—РЕСОВСКОГО

В этом номере журнала «Радиобиология» помещены доклады, заслушанные на IV Чтениях памяти Н.В.Тимофеева-Ресовского (Обнинск, 18—19 сентября 1990 г.), приуроченных к 90-летию со дня его рождения.

Читателям журнала «Радиобиология» нет нужды разъяснять, кем был Николай Владимирович и каков его вклад в науку, — все успехи современной радиобиологии базируются на принципе попадания и мишени, сформулированном им еще в 1935 г. [1]. Сведения о жизненном пути и деятельности Николая Владимировича приведены в «Природе» [2] — журнале, первым отметившим его 90-летие. Остается напомнить историю самих Чтений.

I Чтения состоялись 25—27 мая 1983 г. в Ереване [3] — городе, который так любил Николай Владимирович и где осталось много его учеников. II Чтения [4] проходили 18—20 апреля 1986 г. в Чернигове, в канун аварии на Чернобыльской АЭС. III Чтения состоялись опять в Армении, в Нор-Амберте, 16—19 мая 1989 г., в тяжелое для этой республики время, переживавшей карабахский кризис и последствия землятресения, унесшего множество жизней. Труды этих Чтений уже не удалось издать отдельной книжкой, и они вышли в специальном номере «Биологического журнала Армении» [5].

Для участия в IV Чтениях было представлено около 80 заявок на доклады. Все они опубликованы в виде тезисов [6]. Однако учитывая обстоятельства и юбилейный характер этих Чтений, оргкомитет ограничил число докладов теми, которые публикуются ниже, предоставив участникам Чтений больше времени для выступлений с воспоминаниями, для просмотра двух серий кинофильма Е.Е.Саканян, посвященного Николаю Владимировичу («Рядом с Зубром» и «Охота на Зубра»), а также для посещения кладбища, где похоронены Елена Александровна и Николай Владимирович Тимофеевы-Ресовские.

Естественно возникает вопрос: где и когда состоятся V Чтения? Сегодня ответить на этот вопрос трудно. Чтения памяти Н.В.Тимофеева-Ресовского будут продолжены как лучший способ почтить память этого замечательного человека и ученого. Но весьма желательно, чтобы труды Чтений публиковались в виде отдельных книг, подобно первым двум, и были доступны широкому кругу читателей. Об этом стоит подумать организаторам следующих Чтений.

Оргкомитет IV Чтений
памяти Н.В.Тимофеева-Ресовского

ЛИТЕРАТУРА

1. *Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrûk M.* Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Berlin: Weidmannsche Buchhandlung, 1935. S. 189—245.
2. Природа. 1990. № 9. С. 68—104.
3. Чтения памяти Н.В.Тимофеева-Ресовского. Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1983. 268 с.
4. Эвристичность радиобиологии. Киев: Наук. думка, 1988. 132 с.
5. Биол. журн. Армении. 1989. Т. 42. Вып. 9—10.
6. Актуальные проблемы радиационной биологии и радиационной генетики. Обнинск: НИИМР АМН СССР, 1990. 143 с.

УДК [57+61] : 539.I.04

© 1991 г.

В.И.Корогодин

90 ЛЕТ РАДИОБИОЛОГИИ*

1. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Рождение радиобиологии можно датировать 1899 г. — годом публикации первого исследования, специально посвященного биологическому действию ионизирующих излучений [1]. С тех пор прошло 90 лет — почтенный возраст для современной нам научной дисциплины. Пора попытаться подвести некоторые итоги.

Аристотель [2] отмечал, что в развитии своем каждая наука проходит четыре периода в соответствии с последовательностью ответов на вопросы: «Есть ли нечто?», «Каково оно?», «Когда оно есть?» и «Что оно есть?». Радиобиология к настоящему времени ответила в основном на три первых вопроса и вступила в четвертый, завершающий, период своего развития — установление механизмов, лежащих в основе биологического действия ионизирующих излучений. Правда, речь здесь пока идет не обо всех видах реакций на облучение, а лишь о тех, которые считаются основными, — о летальном и генетическом эффектах. Именно здесь достигнут главный прогресс.

В этой статье я постараюсь выявить те пути развития радиобиологии, которые привели к таким результатам. Радиобиология зародилась на стыке биологии и физики, и на всем протяжении своего развития эта наука имела две ипостаси — выяснение природы биологического действия излучений и использование излучений как инструмента для изучения различных биологических явлений. Обнаружение таких важнейших феноменов, как искусственный мутагенез, стволовые клетки и системы восстановления от повреждений генетических структур, было непосредственно связано с применением ионизирующих излучений. К сожалению, здесь придется говорить об этих феноменах лишь в радиобиологическом аспекте, не касаясь их общебиологического значения.

2. ПЕРВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ И ПЕРВЫЕ ИДЕИ

Первая работа по радиобиологии, опубликованная в 1899 г., принадлежит Ф.Шаудину [1] — известному немецкому протистологу, впоследствии открывшему возбудителя сифилиса. Это было обстоятельное исследование реакций на действие рентгеновских лучей нескольких видов простейших, существенно различающихся, как оказалось, по радиочувствительности. Ф.Шаудин первым описал те видимые в микроскоп изменения, которые претерпевают клетки при продолжающемся облучении, — остановку движения, помутнение протоплазмы, увеличение размеров, наконец, гибель без попыток к делению, сопровождающуюся разбуханием клетки и ее распадом, что характерно для «гибели под лучом» большинства живых клеток. При этом Ф.Шаудин первым высказал мысль, что различия в радиочувствительности, как видовые, так и индивидуальные, могут быть связаны с различиями в состоянии клеточного ядра.

Морфологические исследования с использованием разных доз облучения начиная с 1900 г. проводит все большее число авторов, из которых особенно хочется отметить работу 1903 г. француза Г.Бонэ [3]. Облучая икринки и спермии морского ежа излучениями препарата радия, а затем проводя оплодотворение, Г.Бонэ обнаружил, что при использовании сходных доз величина эффекта — число погибающих зародышей — примерно одинакова при облучении как икринок, так и спермиев. Это, по его мнению, означало, что действие облучения

*Статья дана без рецензирования и изменения.

обусловливается повреждениями не цитоплазмы клеток, а их ядер, точнее, «ядерного хроматина». К такому же выводу — о преимущественном действии ионизирующих излучений на ядро клетки — приходит и немецкий зоолог О.Гертвиг, в лаборатории которого в 10-е годы было проведено обстоятельное исследование последствий облучения половых клеток и развивающихся зародышей разных земноводных. Особенно интересны те работы О.Гертвига [4] и П.Гертвиг [5], в которых было показано, что при возрастании дозы облучения спермиев и последующем оплодотворении необлученных икринок гибель зародышей вначале увеличивается, а затем начинает уменьшаться, причем в последнем случае образуются головастики с уменьшенным числом хромосом. Объяснение напрашивается само собой: гибель зародышей вызывается спермиями с частично поврежденными ядрами, но сохранившими способность к оплодотворению, а спермии с полностью разрушенными ядрами лишь стимулируют икринки к партеногенезу. Сходные результаты были получены при оплодотворении необлученными спермиями облученных яйцеклеток.

Этот начальный, эмпирический, период развития радиобиологии продолжался около 20 лет, в течение которого все расширялся круг используемых объектов и уточнялись методики наблюдений. Итог этому периоду подвел Г.А.Надсон [6] в своей классической работе, в которой он использовал более 100 литературных источников и описал результаты собственных опытов на бактериях, дрожжах и клетках растений. Г.А.Надсон подробно анализирует сходство и различия в реакциях на облучение клеток и тканей разных организмов и их ближайшего потомства, впервые описывает феномен гибели клеток после нескольких делений, а также феномен «выздоровления» облученных клеток, понимая под этим ситуацию, когда некоторые потомки облученной клетки погибают, а другие, продолжая размножаться, постепенно приобретают нормальный вид и образуют колонию. Действие излучений на клетки Г.А.Надсон также связывал с повреждением ядра.

К этому раннему периоду относится и работа французских ученых Ж.Бергонье и Л.Трибондо [7], посвященная наблюдениям над лучевым повреждением разных тканей и органов животных. В этой работе авторы сформулировали обобщение, или, как его иногда называют, закон, согласно которому клетки тем чувствительнее к облучению, чем интенсивнее они размножаются, чем продолжительнее у них фаза митоза и чем менее они дифференцированы. Несмотря на ограниченность этого обобщения, оно существенно стимулировало работы по радиационной онкологии, породив представление (впоследствии не подтвердившееся), что раковые опухоли, состоящие из пролиферирующих клеток, должны быть более радиочувствительными, чем нормальные ткани. Вопрос о том, сколь различаются между собой по радиочувствительности делящиеся и неделящиеся клетки, а также клетки разных тканей и органов, приобрел практическое значение. Начала зарождаться количественная радиобиология.

К одной из первых, еще полуколичественных работ такого рода можно отнести исследование английских гистологов Т.Стренгвейза и Г.Оуклея [8], выполненное на культуре ткани куриного эмбриона. В коротком сообщении авторы отмечают, что если при некоторой продолжительности облучения число делящихся клеток в культуре уменьшается в 2 раза, то удвоение дозы приводит к 4-кратному его уменьшению. Эта в общем-то малозначительная работа интересна не столько сама по себе, сколько как стимул, сыгравший заметную роль в становлении количественной, или, как ее иногда называют, теоретической радиобиологии. Подробнее об этом будет сказано ниже.

3. ПРИНЦИП ПОПАДАНИЯ И МИШЕНИ

К 20-м годам физики уже хорошо знали природу ионизирующих излучений и механизмы их взаимодействия с веществом. Поэтому естественно, что первые попытки создать теорию биологического действия ионизирующих излучений принадлежали именно физикам — немцу Ф.Дессауэру и англичанину Дж.Краузеру.

В 1922 г. Ф.Дессауэр [9] опубликовал статью, стремящуюся ответить на вопрос: как ничтожное количество поглощаемой при облучении энергии, не способное повысить температуру облучаемого объекта даже на доли градуса, может вызывать гибель живых организмов? Случайный характер взаимодействия квантов излучений с молекулами вещества и передача им энергии путем ионизации подсказывали возможный ответ: за летальный эффект может отвечать ионизация отдельных молекул жизненно важных структур клетки, вызывающая их локальный перегрев («теория точечного тепла»). В работе учеников Ф.Дессауэра М.Блау и К.Альтенбургера [10] были приведены первые расчеты, показывающие, как должен зависеть эффект от дозы облучения, если для единицы регистрируемой реакции (например, гибели одной клетки) достаточно одного или большего числа таких событий. Эти же авторы привели экспериментальную проверку теории точечного тепла: рассчитав, что одной ионизации вполне достаточно, чтобы повысить температуру в «точке попадания» на тысячи градусов, они попытались с помощью облучения воспламенить порох, но безрезультатно. Может быть, это послужило одной из причин скептического отношения радиобиологов к подобным абстрактным построениям.

Еще два года спустя была опубликована работа профессора Ридингского университета Дж.Кроузера [11], независимо пришедшего к сходным количественным построениям. Дж.Кроузер опирался на упоминавшуюся выше статью Т.Стренгвейза и Г.Оуклея. Простые расчеты показывали, что подмеченная им закономерность хорошо укладывалась в экспоненциальную зависимость величины эффекта (доли неделящихся клеток) от дозы облучения. При использованных ими дозах — десятках Гр — все клетки испытывали примерно одинаковое число ионизаций, поэтому массовым, кумулятивным действием облучения такую зависимость объяснить нельзя. Но эта зависимость хорошо объяснялась допущением, что для остановки деления клетки достаточно одной ионизации (или одной группы ионизаций) в пределах одной-единственной структуры клетки, ответственной за данный эффект. Расчеты показали, что такая структура должна иметь размеры, соизмеримые с размерами некоторых внутриклеточных органелл, например с центросомой, играющей важную роль в осуществлении деления. Так была сформулирована «теория удара» — первый шаг на пути к принципу попадания и теории мишени.

Столь же простые теоретические соображения привели Дж.Кроузера к выводу, что в случае, когда наблюдаемый эффект вызывается не одним, а несколькими независимыми «ударами», такой эффект с увеличением дозы облучения должен описываться не экспоненциальной, а S-образной, или сигмоидной, кривой. Не найдя соответствующих сведений в литературе, Дж.Кроузер сам предпринял эксперименты, использовав для этого инфузорий Colpidium colpoda и регистрируя прекращение их движения. Это были превосходно задуманные и выполненные опыты, где варьировалась не только величина дозы облучения, но впервые с сознательной целью использовались дозы разной мощности и фракционирование дозы во времени. Результаты, опубликованные в 1926 г. [12], не только подтвердили существование ожидавшейся Дж.Кроузером S-образной зависимости величины эффекта от дозы, но и привели его к открытию «фактора времени» — уменьшения эффективности данной дозы при ее протрагировании или фракционировании. Последнее было объяснено им способностью клеток частично восстанавливаться от последствий облучения. Это была первая работа, экспериментально показавшая существование эффекта восстановления.

Правда, как в работе Т.Стренгвейза и Г.Оуклея, так и в работах Дж.Кроузера, была допущена одна, простительная в те годы погрешность. Дело в том, что они регистрировали не гибель клеток, а задержку их деления, полагая, что если облученная клетка не делится одновременно с контрольными, то она должна погибнуть. Такой предрассудок продержался в радиобиологии до 50-х годов, пока не было установлено принципиальное различие между этими

двумя феноменами: хотя облучение вызывает оба эффекта, но задержку деления испытывают все облученные клетки, и лишь ее продолжительность зависит от дозы, а гибель наступает лишь у части клеток облученной популяции, обычно уже после их вступления в деление, и от дозы облучения зависит доля погибающих клеток. Чтобы это установить, требовалось проводить периодические наблюдения за одними и теми же облученными клетками, а не делать один-единственный срез по времени, как упомянутые авторы. Работы Дж.Кроузера, таким образом, можно отнести к тем не так уж редким в науке ситуациям, когда неверные (или неточные) наблюдения как бы подталкивают исследователя к правильным выводам, оказывающим большое влияние на последующее развитие знаний. Так и в данном случае: строгие количественные построения Дж.Кроузера привели к тому, что в последующем главным инструментом радиобиологии стало определение кривых доза-эффект и их анализ с позиций физических представлений о природе взаимодействия ионизирующих излучений с веществом.

Но окончательные формулировки принципа попадания и мишени были еще впереди. Этому предшествовало такое важное событие не только в радиобиологии, но и в биологии в целом, как открытие мутагенного действия ионизирующих излучений.

Впервые сведения о вызывании мутаций путем облучения были опубликованы Г.А.Надсоном и его учеником Г.С.Филипповым в 1925 г. [13]. Но эта работа была выполнена на плесневых грибках, совершенно не изученных тогда в генетическом отношении, и поэтому не привлекла к себе внимание. Приоритет открытия, а в последующем и Нобелевская премия, совершенно заслуженно достались американскому генетику Г.Мёллеру, ученику Т.Моргана. В 1927 г. на V Международном генетическом конгрессе в Берлине он доложил не только о самом факте мутагенного действия ионизирующих излучений на дрозофилу, но и о ряде фундаментальных закономерностей этого феномена [14]. Так возникла радиационная генетика: изучение закономерностей мутирования, при облучении, генов и хромосом. В разных лабораториях мира началось обстоятельное количественное изучение этого явления и прежде всего определение формы зависимости частоты возникновения мутаций от дозы и качества излучений, от протрагирования и фракционирования облучения и пр. Основные итоги таким исследованиям, а также своим экспериментам в этой области подвели в 1935 г. работавшие тогда в Германии генетик Н.В.Тимофеев-Ресовский, физик-ядерщик К.Г.Циммер и физик-теоретик М.Дельбрюк [15]. Эта широко известная сейчас работа была посвящена использованию ионизирующих излучений для изучения природы генов, и в ней уже были сформулированы все основные положения будущего принципа попадания и мишени и будущей теории мишени. В радиобиологическом же отношении в этой работе был установлен тот фундаментальный факт, что для мутирования одного гена в результате облучения необходимо и достаточно одной-единственной ионизации самого гена или его ближайшего окружения.

Окончательные формулировки принципа попадания и мишени, а также теории мишени были даны лишь в 1946—1947 гг. в монографиях английского физика Д.Ли [16] и Н.В.Тимофеева-Ресовского и К.Г.Циммера [17]. Напомню основные положения этих представлений.

Принцип попадания и мишени основывается на случайности взаимодействия квантов или частиц излучения с атомами или молекулами вещества и на структурно-функциональной гетерогенности живых клеток. Понятийный аппарат этого принципа следующий: «попадание» — акт взаимодействия кванта или частицы излучения со структурой-мишенью; «мишень» — та область или структура клетки, попадание в которую может вызвать изменение реагирующей единицы; «реагирующая единица» — та клеточная структура, повреждение или изменение которой может привести к данной регистрируемой «единице реакции», например мутированию гена, поломке хромосомы или гибели клетки. Эвристичность

принципа попадания и мишени состоит в том, что этот принцип акцентирует внимание исследователя на выяснении вопросов, на которые необходимо иметь ответы, чтобы построить теорию или выяснить механизмы, обусловливающие разного рода реакции клеток на облучение. Принцип попадания и мишени постулирует, что для разных реакций могут различаться как физическая природа событий попадания, так и число попаданий в одну или несколько мишеней, число и природа реагирующих единиц, вызывающих данную реакцию, иногда совпадающих, а иногда не совпадающих с мишенями, а также вероятность повреждения реагирующей единицы при поражении мишени и вероятность проявления единицы реакции при повреждении одной или нескольких реагирующих единиц.

Ответить на эти вопросы — не всегда простая задача. Лишь полвека спустя мы приближаемся к ответу на них для таких радиобиологических реакций, как гибель клеток, мутирование генов и хромосом. Мощным инструментом при проведении таких исследований служит математическое моделирование, базирующееся на теории мишени.

4. ТЕОРИЯ МИШЕНИ

Теория мишени в отличие от принципа попадания и мишени представляет собой математический аппарат, позволяющий рассчитать, как должен зависеть выход (или частота проявления) единицы реакции у облученных клеток от дозы излучений данного качества при данной природе событий попадания, данном числе и размерах мишеней и данной вероятности последствия их поражения. Разыгрывая мыслимые варианты комбинаций возможных исходных условий и пользуясь математическим аппаратом теории мишени, можно строить семейства кривых доза-эффект, соответствующие тем или иным допущениям. При этом выясняются два замечательных обстоятельства: во-первых, все множество таких кривых можно разделить на два больших класса — экспоненциальные, у которых может варьировать (в зависимости от разных допущений) только их наклон, и S-образные, у которых может варьировать как наклон, так и величина «плеча»; во-вторых, для кривых второго класса сходные значения наклона и плеча могут соответствовать весьма разнообразным комбинациям начальных условий [16, 17].

Простейшим случаем, допускающим решение обратной задачи, является, согласно теории мишени, класс таких экспоненциальных кривых доза-эффект, наклон которых не зависит от фактора времени и от условий пострадиационного культивирования клеток. Только здесь, зная наклон экспериментально полученной кривой доза-эффект и его зависимость от линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучений, можно делать надежные допущения о физической природе событий попадания, числе и размерах мишеней. Это — класс так называемых «одноударных» реакций на облучение, когда единица регистрируемой реакции вызывается одним попаданием в единственную или одну из нескольких мишеней, а последствия такого попадания необратимы. Все другие ситуации (класс «многоударных» реакций) для строгого математического анализа (или, точнее, математического моделирования) требуют дополнительных сведений о ряде начальных условий, и теория мишени здесь может служить лишь ориентиром, но не проводником. Естественно, что все сказанное относится только к гомогенным клеточным популяциям, когда начальные условия идентичны для всех облучаемых клеток.

Проиллюстрирую несколькими примерами эвристичность теории мишени. Так, с помощью теории мишени были впервые оценены размеры генов и их число в ядрах клеток, а также размеры некоторых вирусов [15—17]. Единственным основанием для этих оценок послужили кривые доза-эффект, имеющие для указанных объектов экспоненциальную форму. Далее, из теории мишени следует, что в случае экспоненциальных кривых доза-эффект для выяснения природы реагирующих единиц бесполезно проводить биохимический анализ облученных клеток: изменения массовых структур во всех клетках облученной популяции будут лишь маскировать

ответственные за эффект изменения единичных структур-мишеней, частота которых экспоненциально нарастает с дозой. Наконец, из этой теории следует, что бесполезно искать единичные структуры-мишени, если регистрируемый эффект равномерно выражен у всех облученных клеток и с дозой возрастает лишь его величина (как, например, задержка деления клеток, подавление их энергетического обмена и т.п.), в таких случаях действеннее будет корректный биохимический анализ.

И последнее. Ни принцип попадания, ни теория мишени не делают априорных допущений о природе как самих мишеней, так и реагирующих единиц. Напротив, они акцентируют внимание на необходимости установления их природы в каждом конкретном случае, для разных биологических объектов и разных реакций на облучение. В такой же мере теория мишени не только не отвергает, но даже предполагает существование ряда экзогенных и эндогенных химических факторов, модифицирующих радиочувствительность клеток, а также возможность восстановления клеток от получаемых повреждений, давая в руки исследователя аппарат, позволяющий количественно оценивать эффективность воздействия этих сопутствующих облучению обстоятельств [18].

5. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЙ

Нередко, особенно в отечественной литературе, генетическую концепцию биологического действия ионизирующих излучений отождествляют с принципом попадания или теорией мишени; это, конечно, неправильно [19]. Как я уже говорил, ни принцип попадания, ни теория мишени не постулируют априори, какие именно структуры клеток ответственны за те или иные проявления последствий облучения. Генетическая же концепция, длительное время развивавшаяся независимо от количественной радиобиологии, родилась из стремления ответить именно на этот вопрос.

Начало формирования генетической концепции восходит, как мы помним, еще к работам Г.Боне и О. и П.Гертвигов, показавших сходную радиочувствительность спермиев и икринок иглокожих и земноводных. Однако вопрос об относительной роли в поражении клетки ядра и цитоплазмы еще долго волновал радиобиологов, вплоть до 40—50-х годов, стимулируя все новые и новые эксперименты.

Правда, в случае генных мутаций этот вопрос был решен еще в 1935 г. [15], когда было экспериментально установлено, что мутации генов в спермиях самцов дрозофилы возникают в ответ на одну ионизацию гена при облучении, причем была или нет облучена яйцеклетка, оплодотворенная этим спермием, значения не имеет, а облучение яйцеклеток не вызывает мутирования генов вводимых в них спермиев. Это — яркий пример радиобиологических реакций, когда попаданием служит один акт ионизации, мишень совпадает с реагирующей единицей, а поражение (ионизация) реагирующей единицы неизбежно вызывает регистрируемую реакцию — мутацию. Напомню, что установлено это было еще тогда, когда ни о химической природе гена, ни о молекулярных механизмах мутационных событий ничего не было известно.

Что же касается летального действия излучений, то здесь исследования проходили в два этапа. На первом этапе было сделано немало попыток решить вопрос «ядро или цитоплазма?» с использованием в основном методов локального облучения. Итоги этим работам, а также своим опытам на тутовом шелкопряде подвел в 1947 г. Б.Л.Астауров [20]. Схема опытов Б.Л.Астаурова подобна схеме опытов П.Гертвиг [5]: яйцеклетки, облученные в разных дозах, оплодотворяли необлученными спермиями. В случае выключения из оплодотворения ядер яйцеклеток (тепловым шоком) зародыши развивались за счет слияния двух мужских пронуклеусов, функционирующих в облученной цитоплазме. Так можно было сравнивать влияние на развитие зародышей облученных ядер и облученной цитоплазмы. Результаты этих опытов не оставили сомнений в том, что только

прямое повреждение (при облучении) ядра может приводить клетку к гибели. Позже опубликованные опыты В.А.Струнникова [21], также выполненные на грене тутового шелкопряда, уточняют это утверждение: облучение одной только цитоплазмы может вызывать летальные последствия лишь при дозах, в сотни раз превышающих те, которые обусловливают гибель за счет повреждения одного ядра. Для грены тутового шелкопряда это дозы порядка тысяч Гр, что находится в диапазоне доз, летальных даже для таких гиперплоидных простейших, как инфузории.

Таким образом, роль повреждения ядерного аппарата в летальном действии излучений на клетки можно было считать доказанной; повреждение цитоплазматических структур имеет здесь значение лишь при несоизмеримо более высоких дозах, когда можно говорить о прямом разрушении массовых негенетических структур клеток. Характерно, что если кривые доза-эффект для «ядерной гибели» имеют, как правило, небольшое плечо, то для «цитоплазматической гибели» плечо велико, наподобие гибели при высоких температурах или больших концентрациях токсических химических соединений.

Второй этап развития этой проблемы состоял в ответе на вопрос, какие именно изменения ядерных структур отвечают за летальное действие излучений. Вначале казалось, что для гаплоидных клеток ведущая роль здесь должна принадлежать генным летальным мутациям, как правило, рецессивным, а для диплоидных и полиплоидных клеток — так называемым доминантным леталям, представляющим в большинстве своем крупные хромосомные перестройки [22]. Эта точка зрения представлялась почти очевидной — иначе трудно было объяснить большую радиорезистентность диплоидных и полиплоидных клеток по сравнению с гаплоидными. Лишь в 70-х годах было установлено, что гибель и гаплоидных, и диплоидных, и полиплоидных клеток вызывается однотипными повреждениями хромосом, а различия в чувствительности к облучению гаплоидных и диплоидных (или полиплоидных) клеток обусловливаются диплоидспецифической репарацией и зависимостью вероятности летальных последствий таких повреждений от числа наборов хромосом в одном ядре [23].

В 70-х годах было окончательно установлено, что радиационная гибель большинства живых клеток, от бактерий до клеток млекопитающих, наступающая при попытке вступить в митоз или после нескольких делений, обусловлена повреждениями хромосом, главным образом в результате прямой ионизации. Повреждения негенетических структур клеток, например оболочки или цитоплазмы, оказываются летальными либо для некоторых мутантов (как Fil^+-штаммы E.coli), либо при очень высоких дозах облучения. Клетки, несущие летальные повреждения хромосом, до вступления в митоз могут долго оставатся живыми и нормально функционировать (как, например, нервные клетки, клетки печени и мышц млекопитающих, клетки меристемы у растений), но неизбежно погибают, если стимулировать их деление. Неясна ситуация с так называемой интерфазной гибелью, или, точнее, ранней пикнотической дегенерацией, характерной для клеток животных, находящихся в состоянии дифференцировки. Можно, однако, думать, что и здесь решающее значение принадлежит повреждениям генетических структур [18].

6. ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК ОТ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Свойство клеток восстанавливаться от повреждений их генетических структур, возникающих при облучении, в 50-е годы было показано несколькими авторами на разных биологических объектах — от микроорганизмов до клеток высших растений и животных [24—26]. Напомню, что о такой возможности писали еще в 20-е годы [6, 12], но специальным объектом исследований «эффект восстановления» стал лишь 30 лет спустя. Иногда говорят о трех типах восстановления: при фракционировании дозы облучения, при выращивании облученных клеток на разных питательных средах и при вре́менной задержке их деления. Но во всех этих случаях восстановление проявляется в том, что при его наличии выживае-

мость облученных клеток повышается во много раз, имитируя уменьшение полученной ими дозы на 50—85% и более.

Доказательство реальности эффекта восстановления совпало по времени с двумя событиями: открытием генных мутаций, влияющих на радиочувствительность клеток (т.е. уменьшающих ее или увеличивающих), и установлением генетической роли ДНК, ее химического строения и значения повреждений ДНК в вызывании мутаций хромосом. Синтез этих направлений исследований привел к тому, что в 70-е годы были в основном идентифицированы комплексы ферментов или так называемые репарационные системы клеток, осуществляющие репарацию ДНК от повреждений [27, 28]. Более того, оказалось, что репарационные системы, обнаруженные в радиобиологических исследованиях, играют огромную роль в нормальной жизнедеятельности клеток, принимая активное участие в процессах репликации и рекомбинации ДНК и в обеспечении устойчивости ДНК к самым разным ДНК-тропным агентам. У многоклеточных организмов, в том числе у человека, нарушения систем репарации, часто связанные с единичными генными мутациями, могут приводить к ряду наследственных заболеваний, нередко имеющих летальный исход. Репарационные системы, таким образом, не только обеспечивают повышенную резистентность клеток к облучению, но и являются системами, необходимыми для нормальной жизнедеятельности клеток и организмов. Весьма вероятно, что развитие репарационных систем сыграло важную роль в эволюции структурной организации генетического аппарата живых организмов [29].

В терминах теории мишени эффективность работы репарационных систем можно выразить величиной, обратной вероятности реализации поврежденной мишени в единицу регистрируемой реакции [30]. Применение этого подхода при изучении как радиосенсибилизирующегося и радиозащитного действия некоторых химических соединений, так и чувствительности клеток к излучениям с разной ЛПЭ показало, что в первом случае важнейшая роль принадлежит подавлению или стимуляции процессов репарации, а во втором — зависимости от ЛПЭ частоты возникновения обратимых и необратимых первичных повреждений ДНК [31].

Несколько подробнее рассмотрим второй случай, непосредственно связанный с решением проблемы ОБЭ — проблемы относительной биологической эффективности излучений с разной линейной передачей энергии. Пусть для поражения данных клеток необходимо и достаточно одного попадания в мишень, которой служит молекула ДНК. Если такие клетки дефектны по системам рапарации, т.е. все такие повреждения необратимы, то радиочувствительность клеток вначале не будет зависеть от ЛПЭ, а с повышением ЛПЭ выше некоторого порога, когда среднее расстояние между соседними ионизациями соизмеримо с поперечным сечением молекулы ДНК, станет уменьшаться — многие ионизации будут «тратиться впустую». Пусть теперь такие клетки имеют нормальные системы репарации и могут восстанавливаться от повреждений, вызываемых одной ионизацией, тогда как повреждения, возникающие в одном участке ДНК под влиянием нескольких ионизаций, необратимы. У таких клеток их чувствительность к излучениям с низкой ЛПЭ будет намного меньше, чем в первом случае, а с увеличением ЛПЭ будет вначале возрастать (за счет роста числа необратимых повреждений) и лишь затем начнет уменьшаться. Обе эти ситуации можно рассчитать, зная характеристики генетического аппарата клеток, состояние их репарационных систем, молекулярную природу обратимых и необратимых повреждений ДНК и микрогеометрическое распределение ионизаций для излучений разного качества. В основе таких расчетов лежат принцип попадания и теория мишени [31].

7. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ЛЕТАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЙ НА КЛЕТКИ

Теперь мы подходим к завершающему этапу развития теоретической радиобиологии — к ответу на вопрос «Что оно есть?» Ответить на этот вопрос — значит вывести конечный регистрируемый эффект (со всеми его качественными и коли-

чественными характеристиками) из тех первичных пусковых событий, которыми являются события попадания и которые разыгрываются на молекулярном уровне. Конкретизация природы таких пусковых событий стала возможной благодаря широкой экспериментальной разработке генетической концепции лучевого поражения, выяснению химического строения ДНК, изучению генетического контроля радиочувствительности и пострадиационного восстановления, а также развитию методов микродозиметрии.

К 70-м годам были уже хорошо изучены химические изменения, вызываемые облучением в самых разных компонентах живых клеток — воде и водных растворах, жирных кислотах и липидах, аминокислотах и белках, углеводах, нуклеотидах и нуклеиновых кислотах, различных ферментах и витаминах, белково-липидных мембранах и нуклеопротеидах [32]. Стало ясно, что подавляющее большинство таких изменений, а именно изменения оболочек и массовых внутриклеточных структур, не могут иметь серьезного биологического значения: ничтожные по величине (при разумных дозах облучения), они легко компенсируются путем ресинтеза. Только изменения уникальных генетических структур, осуществляющих и регулирующих процессы матричного синтеза, играют ведущую роль в лучевом поражении. Исследования in vitro показали, что облучение может вызывать разрывы водородных связей сахарофосфатной основы цепей ДНК, сшивки ДНК-ДНК и ДНК-белок, радиолиз азотистых оснований, приводящий к различным их химическим изменениям. Какие же из этих повреждений ДНК могут вызывать гибель живых клеток?

В 1966 г., использовав технику ультрацентрифугирования и бактерии E.coli, американские исследователи Р.Мак-Грат и Р.Вильямс [33] установили, что разрывы молекул ДНК, возникающие при действии на живые клетки рентгеновских лучей, в пострадиационный период могут подвергаться репарации (воссоединению). Это положило начало изучению молекулярных основ действия ионизирующих излучений на живые клетки. Все дискуссии о природе «первичных» и «начальных» лучевых повреждений, «пусковых механизмах» и пр. [19] уступили место целенаправленному экспериментальному изучению этих явлений. Работы по изучению молекулярных основ радиобиологии стали быстро развиваться в разных странах. У нас к этим исследованиям подключились В.П.Парибок, Э.А.Вальдштейн, В.Д.Жестянников и Н.В.Томилин в Ленинграде, А.И.Газиев с сотрудниками в Пущино, А.Г.Коноплянников и Н.А.Рябченко в Обнинске и др. (см. [34]). Число публикаций по этой проблеме быстро достигло сотен статей и десятков монографий. Здесь я коротко суммирую основные итоги этих работ, обобщенных в [27, 28, 31, 32, 34].

Прежде всего было установлено, что чувствительность ДНК к ионизирующим излучениям не зависит от того, из каких клеток ДНК получают и облучают ли ее в самих клетках или в растворе. Во всех этих случаях идентичны и первичные повреждения ДНК — однонитевые и двунитевые разрывы, сшивки, изменения оснований. Зависимость выхода повреждений от дозы облучения, а также их распределение по длине молекул ДНК определяются только случайными закономерностями и описываются в терминах теории мишени. Это означает, что первичные повреждения ДНК являются следствиями преимущественно прямого, непосредственного действия излучений на эти молекулы (исключая облучение ДНК в разбавленных растворах, конечно). Представления о значимом вкладе в этот эффект непрямого действия (посредством долгоживущих радикалов и пр.), а также о том, что повреждения ДНК возникают вторично, под влиянием продуктов извращенного метаболизма клеток, утратили смысл.

Далее, было установлено, что л е т а л ь н ы м и для клеток являются главным образом двойные разрывы ДНК. У прокариот двойные разрывы приводят к фрагментации молекул ДНК, у эукариот — к разного рода аберрациям хромосом. Роль других повреждений ДНК (однонитевых разрывов, сшивок, изменений оснований) в летальном эффекте мала, если эти повреждения в ходе функциониро-

вания репарационных систем не трансформируются на промежуточных этапах репарации в двунитевые разрывы вторичного, «метаболического», происхождения. Это утверждение справедливо для всех изученных в этом отношении объектов — бактерий, грибов, растений и животных, за исключением некоторых вирусов, содержащих однонитевые молекулы ДНК или РНК, а также некоторых мутантов бактерий, для которых летальными являются и однонитевые разрывы. Это не означает, что для гибели клетки всегда достаточно одного двойного разрыва — в некоторых случаях их может потребоваться несколько; это означает, однако, что именно двойные разрывы, какого бы происхождения они ни были, с той или иной вероятностью вызывают гибель облученных клеток.

Наконец, тот факт, что ДНК по «первичной радиочувствительности» одинакова для клеток, обладающих самой разной радиорезистентностью, означает, что определяющая роль в радиочувствительности клеток принадлежит не только выходу при данной дозе повреждений ДНК, но также таким факторам, как количество ДНК в клетке, структурная организация генетического аппарата, степень дублированности генетической информации, механизмы репарации и ее эффективность. Если бы вообще не существовало репарационных систем, то радиочувствительность клеток целиком определялась бы содержанием ДНК, т.е. размерами мишени, совпадающей с реагирующей единицей. Но таких ситуаций не бывает, их невозможно получить в эксперименте, ибо системы репарации необходимы для поддержания нормальной жизнедеятельности клеток. Различия в репарационных системах у разных объектов могут касаться лишь таких сторон репарации, нарушения которых совместимы с жизнеспособностью, т.е. дефектов отдельных репарационных ферментов и эффективности работы репарационных систем, зависящей от особенностей клеточного метаболизма, например энергетического обмена или синтеза белка. Разные типы репарации по-разному выражены у разных организмов. Так, клетки большинства бактерий неспособны репарировать двунитевые разрывы ДНК, и такие повреждения для них необратимы, а диплоидные дрожжи и клетки млекопитающих довольно легко с ними справляются, используя рекомбинационный тип репарации.

Не вдаваясь в детали этих вопросов, подробно рассмотренных в монографии Е.А.Красавина [31], отмечу лишь, что уже сегодня, по крайней мере для некоторых биологических объектов, можно строить блок-схемы, связывающие первичные молекулярные повреждения ДНК, через ряд промежуточных событий, отражающих работу репарационных систем, с кривой доза-эффект, описывающей экспериментально получаемые зависимости доли выживающих клеток от дозы излучения того или иного качества. И хотя такие блок-схемы построены сейчас лишь для ограниченного числа достаточно хорошо изученных объектов, вряд ли существуют принципиальные препятствия для построения таких же блок-схем для клеток самых разных живых организмов. Поэтому проблему молекулярных механизмов летального действия ионизирующих излучений на живые клетки можно считать в принципе решенной.

8. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ

Генетическое действие излучений, как мы помним, было обнаружено Г.Мёллером [14] в 1927 г. на дрозофиле, а вскоре Л.Стедлер [35] описал возникновение под влиянием облучения аберраций хромосом в клетках растений. Число публикаций по генетическому действию излучений неуклонно нарастало примерно до 60-х годов, после чего стало уменьшаться — основные закономерности этих эффектов были изучены, и наступил период выяснения обусловливающих их механизмов.

Объектами для изучения вызываемых облучением мутаций долгое время служили дрозофила и клетки растений, с 50-х годов — бактерии и грибы,

а затем и клетки млекопитающих в культуре. Довольно быстро было установлено, что закономерности вызывания как генных, так и хромосомных мутаций близки для самых разных организмов, от вирусов и бактерий до клеток высших растений и животных, но существенно различаются между собой. Механизмы, обусловливающие эти типы мутаций, также различны и постепенно начали проясняться.

Прежде всего сказанное относится к возникновению хромосомных мутаций. Две гипотезы, высказанные на этот счет еще в 20-х годах — «разрыв-воссоединение» [36] и «повреждение-рекомбинация» [37], — по-видимому, правильны обе. Только под «разрывом» сейчас понимают разрыв молекулы ДНК, а под «рекомбинацией» — рекомбинационную форму репарации, которая может полностью ликвидировать первичное повреждение, а может проходить и с ошибками, особенно когда в нее вовлечены несколько поврежденных участков хромосом. Многие аберрации хромосом, как я уже отмечал, вызывают летальный эффект. Поэтому к закономерностям образования мутантных хромосом относится все то, что характерно и для летального действия излучений на клетки: такая же зависимость от ЛПЭ-излучений и такая же модифицируемость химическими агентами и процессами репарации. Летальное действие аберраций зависит от генотипа клеток и их функционального состояния. Так, для гаплоидных клеток летально подавляющее большинство повреждений, связанных с потерей даже незначительной доли генетического материала. У клеток, несущих дублированные генетические структуры, некоторые виды аберраций могут вызывать не гибель, а так называемый каскадный мутагенез, т.е. длительно, на протяжении сотни делений, сохраняющуюся хромосомную нестабильность, проявляющуюся в повышенной частоте появления летальных секторов и генетически измененных клеточных линий [38]. Количественные закономерности выхода хромосомных аберраций, летального эффекта и появления нестабильных клонов хорошо описываются в терминах «вероятностной модели», основанной на принципе попадания и теории мишени [30]. Молекулярная природа повреждений, вызывающих мутации хромосом, — это однонитевые и двунитевые разрывы ДНК, а также некоторые другие повреждения, которые в результате незавершенной репарации могут приводить к «метаболическим» разрывам [31].

Характерно, что повреждения хромосом можно выявить только в делящихся клетках. Пока клетки не вступили в митоз, такие повреждения ничем себя не проявляют и могут сохраняться в «латентном состоянии» весьма длительное время. Это, впрочем, относится и к мутациям генов, «фиксация» которых обычно приурочена к синтезу ДНК и делению клетки.

Однако в других отношениях закономерности и механизмы образования генных мутаций существенно иные, чем в случае аберраций хромосом. Как уже давно было подмечено, кривые доза-эффект для генных и хромосомных мутаций различаются, отражая тот факт, что для мутирования гена достаточно одной ионизации или одной группы ионизаций (результата одного попадания), а для мутирования хромосом требуется несколько ионизаций (несколько попаданий) [15]. Для генных мутаций характерна также значительно меньшая модифицируемость химическими соединениями и процессами репарации, чем для хромосомных мутаций и летального эффекта [39, 40]. Генные мутации редко бывают для клеток летальны [41]; подавляющее большинство так называемых рецессивных леталей, с индукции которых началось изучение генетического действия излучений, при тщательной проверке оказались аберрациями хромосом — делециями разной величины, а также внутри- и межхромосомными обменами [42]. Если при этом учесть, что выход летальных генных мутаций при облучении намного ниже, чем выход хромосомных аберраций, то становится ясно, что вклад их в радиационную гибель клеток практически ничтожен.

Молекулярные механизмы формирования генных мутаций изучаются довольно интенсивно, в основном на прокариотах, и успехи в этом направлении позволяют надеяться, что и этот раздел радиобиологии близок к своему завершению. У прокариот первичными повреждениями ДНК, приводящими к генным мутациям, являются в основном не разрывы ДНК, а изменения оснований и так называемые комплексные повреждения: в реализации таких повреждений в генные мутации ведущая роль принадлежит SOS-репарации, точнее, ее мутагенной ветви [43, 44]. SOS-репарация, а также рекомбинационная репарация во время репликации ДНК могут приводить либо к исправлению первичных повреждений, либо к замене оснований, либо к их выпадению или вставкам. Таким образом, радиационные генные мутации — это не результат «ошибок репарации» летальных повреждений, как представлялось еще несколько лет назад, а независимый процесс, имеющий свои закономерности и идущий по своим механизмам.

Наконец, следует также упомянуть об онкогенном действии ионизирующих излучений — зловещем эффекте, унесшем еще в первой четверти века жизнь многих физиков и врачей, работавших с этим видом лучистой энергии. Лучевой рак — это, конечно, последствие нелетальных генетических изменений в облученных клетках. Но с чем непосредственно связана злокачественная трансформация: с мутациями ли определенных генов или хромосом, или с феноменом, подобным индукции профага у бактерий, или с возникновением нескольких независимых мутационных событий в одной клетке — пока что неизвестно. Ключом к решению этой задачи, может быть, послужит недавно обнаруженная высокая онкогенная эффективность излучений с ЛПЭ порядка 10^2 кэВ/мкм [45], превышающая относительную биологическую эффективность таких излучений в отношении летального и мутагенного действия.

Конечно, сказанное выше следует расценивать лишь как грубую схему радиационной индукции мутаций, но схему, охватывающую основной массив фактов. Для «доработки деталей» может потребоваться еще ряд лет, но суть дела от этого вряд ли существенно изменится.

9. КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ

Так же как повреждения ДНК являются основой мутирования генов и хромосом, а также лучевой инактивации клеток, повреждения клеток являются основой поражения при облучении всех многоклеточных организмов: растений, беспозвоночных и позвоночных, включая человека. Это окончательно установлено для всех достаточно хорошо изученных в этом отношении объектов. Для всех них уже давно выявлены «критические» органы и ткани, играющие в их жизнедеятельности важную роль и представленные активно пролиферирующими клетками. У растений это клетки меристемы, расположенные в точках роста [46], у взрослых насекомых — клетки кишечника, начинающие делится во время активного пищеварения, у млекопитающих и человека — клетки кроветворной системы и пищеварительного тракта, в первую очередь крипт тонкого кишечника [47]. Радиочувствительность органов-мишеней, обусловливающих радиочувствительность целостного организма, определяется двумя факторами: числом и радиочувствительностью их стволовых клеток. И хотя это давно и хорошо установлено, в нашей стране возникают время от времени на эту тему дискуссии, пытающиеся утвердить точку зрения, что, например, лучевое поражение млекопитающих обусловлено образующимися при облучении «радиотоксинами», уже вторично вызывающими клеточную гибель [19]. Именно поэтому я проиллюстрирую

сформированное выше положение данными старых экспериментов, суммированными более 20 лет назад в книге Н.В.Тимофеева-Ресовского с соавт. [18].

Как известно, главной причиной гибели млекопитающих, в том числе и мышей, на всем диапазоне частично летальных доз является «костномозговой синдром» — опустошение костного мозга и вызываемое этим нарушение кроветворения. «Кишечный синдром», связанный с прободением тонкого кишечника, обусловленным инактивацией и гибелью клеток крипт, наступает при значительно бóльших дозах, а гибель за счет «нервного синдрома» — за редкими исключениями при гигантских дозах, вызывающих цитоплазматическую гибель у одноклеточных организмов.

Решающую роль в расшифровке механизмов костномозгового синдрома сыграло обнаружение канадскими радиобиологами Дж.Тилом и Е.Мак-Кулохом стволовых клеток костного мозга и селезенки — слабо дифференцированных, активно размножающихся клеток, дающих начало красному и белому росткам крови и обеспечивающих репопуляцию органов кроветворения. Эти же авторы в 1961 г. разработали методику количественного определения числа жизнеспособных стволовых клеток в образцах костного мозга и тем самым методику определения радиочувствительности этих клеток [48]. Эти исследования сделали понятным тот давно известный факт, что млекопитающих, облученных в летальной дозе, можно спасти от лучевой болезни, экранировав до облучения небольшой участок кроветворной ткани или пересадив им после облучения некоторое количество изогенного костного мозга.

Выживаемость облученных стволовых клеток мышей можно определять, оставляя их в своем же облученном организме или облучая их вне организма и пересаживая затем либо в облученных, либо в необлученных животных. Оказывается, что кривые выживания стволовых клеток во всех трех случаях совпадают. Это означает, что жизнеспособность как необлученных, так и облученных в разных дозах стволовых клеток не зависит ни от того, облучали их in citu или in vitro, ни от того, находились они затем в организме облученных или необлученных мышей.

Можно также сопоставить кривые выживания самих облученных мышей и кривые выживания их стволовых клеток. При этом оказывается, что дозы, вызывающие гибель около 50% мышей, соответствуют выживаемости всего около 0,5% их стволовых клеток. Учитывая индивидуальный разброс этих величин, можно думать, что достаточно, чтобы в облученном организме остались неповрежденными не менее 0,5% стволовых кроветворных клеток, чтобы их размножение обеспечило репопуляцию опустошенных кроветворных органов и тем самым выживаемость самих животных. Этот вывод прекрасно подтверждается теми фактами, что летально облученные мыши выживают, если им заэкранировать часть конечности, содержащую около 0,5% костного мозга от его общего количества, или ввести изогенный костный мозг в количестве, содержащем около 0,5% стволовых клеток от числа, имеющегося у необлученного животного. При этом характерно, что период наиболее бурного размножения сохранившихся или введенных стволовых клеток и регенерации костного мозга совпадает по времени с периодом наиболее быстрого нарастания в тканях облученных животных так называемых радиотоксинов — продуктов распада погибших клеток и вызванной ими интоксикации. Сказываясь на общем самочувствии животных, эти радиотоксины, однако, никак не влияют ни на жизнеспособность, ни на скорость репопуляции стволовых клеток.

Эти опыты настолько убедительны, что не оставляют никаких сомнений в том, что в основе лучевого поражения млекопитающих, в том числе и человека, лежит прямое поражение при облучении стволовых клеток их критических органов [47, 49]. Это не означает, конечно, что общая патология организма, вызываемая как распадом поврежденных клеток, так и другими сопутствующими причинами (инфицированием и пр.), не играет никакой роли в патогенезе лучевой

болезни. Но роль эта — вторичная, и ее можно существенно компенсировать соответствующей диетой и общеукрепляющей терапией, уменьшив тем самым смертность облученных животных от сопутствующих причин и способствуя лучшей регенерации кроветворных тканей [49].

Конечно, лучевая болезнь животных не ограничивается тремя видами упомянутых выше синдромов, а имеет еще ряд предшествующих и сопутствующих им, а также последующих — для сохранивших жизнеспособность — проявлений. Это различные иммунные и гормональные нарушения, снижение устойчивости к повреждающим воздействиям и инфекциям, уменьшение средней продолжительности жизни при сопутствующей симптоматике преждевременного одряхления и пр., но, как сейчас уже совершенно ясно, в основе всех этих нарушений лежат клеточные механизмы. Такова же природа действия различных химических соединений, обладающих радиозащитным или радиосенсибилизирующим эффектом. Уже давно было ясно, что все химические радиомодификаторы по принципу их действия можно подразделить на три большие группы: средства, влияющие на выход молекул, измененных в результате первичных радиационно-химических реакций (такие средства эффективны при их применении перед или во время облучения); средства, влияющие на эффективность процессов пострадиационной репарации клеток (эффективные при использовании сразу после облучения); и средства, влияющие на пролиферацию сохранивших жизнеспособность клеток (эффективные при использовании в более поздние сроки) [50]. Обзор механизмов действия различных соединений этих трех групп дан в книге [32]. Все это позволяет сказать, что механизмы лучевого поражения многоклеточных организмов, как растений, так и животных, в настоящее время в основном уже выяснены.

10. НЕКОТОРЫЕ НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ

Как я уже отмечал, сущность классической радиобиологии составляли две центральные проблемы: летальное и мутагенное действия ионизирующих излучений. Выше я постарался показать, что разработка обеих этих проблем движется к финишу: хотя еще многое остается сделать, главным образом в отношении конкретизации молекулярных механизмов, вряд ли здесь можно ожидать обнаружения существенно новых феноменов или формулировки принципиально новых представлений. Однако и здесь есть интересные нерешенные вопросы, к некоторым из которых я и хочу привлечь внимание.

Одной из загадок летального действия излучений на клетки является форма кривой выживания у простейших. Кривые выживания изученных в этом отношении инфузорий и амеб имеют очень большое плечо и пологий наклон. Традиционно это объясняли полигеномностью таких одноклеточных животных: все инфузории, как известно, имеют полиплоидные макронуклеусы, а большинство амеб, даже одноядерных, — множественные наборы хромосом. Оказалось, однако, что такая же кривая выживания присуща Entamoeba moshkovskii, имеющей всего одно ядро с пятью хромосомами [51]. Остается предположить, что либо у простейших хромосомы обладают высокой политенностью, либо у них очень мощные репарационные системы, практически полностью ликвидирующие повреждения хромосом, вызываемые дозами в сотни и тысячи Гр. Любой из таких ответов может представить большой интерес для общей биологии.

Не менее интересна и другая ситуация, характерная для дифференцирующихся клеток высших животных, — их массовая пикнотическая дегенерация вскоре после облучения в относительно невысоких дозах (порядка нескольких Гр). Такой гибели не наступает, если клетки, уже облученные, перенести из организма в условия культуры, где они могут размножаться, но процесс дифференциации прекращается [52]. Этот феномен, имеющий прямое отношение к механизмам дифференцировки клеток и к действию облучения на развивающиеся организмы (особенно в эмбриональном периоде), еще ждет своего объяснения.

Не ясен также и механизм массовой индукции при облучении генетически нестабильных клонов, наблюдающийся у дрожжевых клеток [38], у клеток млекопитающих в культуре [53] и, возможно, в организме. «Каскадный мутагенез» может играть определенную роль в генетической адаптации популяций микроорганизмов в стрессовых ситуациях. Не исключено, что это явление лежит в основе таких отдаленных последствий, как рак, проявляющийся у человека иногда спустя много лет после облучения.

Как я уже упоминал, требует выяснения и механизм радиационного канцерогенеза. Здесь, как в фокусе, сходятся интересы радиобиологов, онкологов и молекулярных генетиков, и, думаю, этот вопрос будет решен раньше, чем три предыдущих.

Из области мутагенного действия ионизирующих излучений очень интересной является закономерность индукции мутаций генов при действии малых доз. Еще давно Р.фон Борстель [54] обратил внимание на то, что у дрозофилы экстраполяция кривой доза-эффект для точковых мутаций к нулевой точке пересекает ось ординат значительно ниже, чем частота возникновения мутаций в контроле, без облучения. А как обстоит дело у других организмов? Различаются ли в этом отношении соматические и половые клетки? Прежде чем будут получены ответы на эти вопросы, потребуется проведение очень обширных и трудоемких генетических исследований.

К проблеме действия малых доз относится и феномен радиостимуляции, уже давно наблюдавшийся у растений и некоторых микроорганизмов. Литература здесь очень обширная, феномен, казалось бы, хорошо изучен, но относительно его природы, обусловливающих его механизмов пока что существуют лишь догадки, сводящиеся к перефразировкам принципа, еще в конце прошлого века сформулированного классиком русской фармакологии Н.П.Кравковым; согласно этому принципу, всякие токсические вещества и продукты распада, губительно действующие на клетки при высоких концентрациях, в очень низких концентрациях оказывают на те же клетки стимулирующее, повышающее жизнедеятельность влияние (цит. по. [32], с. 268). Так ли это в случае радиационной стимуляции, до сих пор не ясно.

К проблеме действия малых доз относится и последний феномен, к которому я хотел бы привлечь внимание. В отличие от предыдущих он был обнаружен и описан сравнительно недавно. Это — снижение жизнеспособности у потомков облученных клеток, в равной мере проявляющееся у всех выживающих клеток облученной популяции и сохраняющееся у них на протяжении сотен последовательных делений. Это явление И.Б.Бычковская [55] наблюдала у дрожжей, водорослей, амеб и инфузорий; есть основание думать, что оно присуще также клеткам высших растений и животных. Феномен этот, прямо противоположный радиостимуляции, еще очень мало изучен. Можно полагать, что его дальнейшее изучение и выяснение обусловливающих его механизмов сулит много неожиданного.

Таковы, на мой взгляд, некоторые направления дальнейших перспективных исследований в области радиационной биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Schaudinn F.* Über den Einfluss der Röntgenstralen auf Protozoen // Pflüger's Arch. ges. Physiol. Mensch. Bonn: Thiere, 1899. B. 77. S. 29.
2. *Аристотель.* Вторая аналитика. Соч. Т. 2. М.: Мысль, 1978. С. 315.
3. *Bohn G.* Influence des rayons du radium sur les ocufs vierges et fécondes, et sur les premiers stades du developpement // C.r. Acad. sci. 1903. V. 136. P. 1085.
4. *Hertwig O.* Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch Artfemden radiumbestrahlten Samen // Arch. mikroskop. Anat. 1913. Abt. 2. B. 81. S. 87.
5. *Hertwig P.* Durch Radiumbestrahlund verursachte Entwicklung von halbkernigen Triton- and Fischemoryonen // Arch. mikroscop. Anat. 1916. Abt. 2. B. 81. S. 63.
6. *Надсон Г.А.* О действии радия на дрожжевые грибки в связи с общей проблемой влияния радия на живое вещество // Вестн. рентгенологии и радиологии. 1920. Т. 1. Вып. 1—2. С. 45—137.

7. *Bergonié J., Tribondean L.* Interprétation de quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation d'une technique radionelle // C.r. Arch. sci. 1906. V. 143. P. 983.
8. *Strangeways T.S.P., Oakley H.E.H.* The immediate changes observed in tissue cells after exposure to X-rays while growing in vitro // Proc. Roy. Soc. 1923. V. 95. P. 373.
9. *Dessauer F.* Über einige Wirkungen von Strahlen // Z. Physik. 1922. B. 12. S. 38.
10. *Blau M., Altenburger K.* Über einige Wirkungen von Strahlen // Z. Physik. 1922. B. 12. S. 315.
11. *Crowther J.A.* Some consideration relative to the action of X-rays on tissue cells // Proc. Roy. Soc. 1924. V. 96. P. 207.
12. *Crowther J.A.* The actiob of X-rays on Colpidium colpoda // Proc. Roy. Soc. 1926. V. 100. P. 390.
13. *Надсон Г.А., Филиппов Г.С.* О влиянии рентгеновых лучей на половой процесс и образование мутантов у низших грибов (Mucoraseae) // Вестн. рентгенологии и радиологии. 1925. № 3. Вып. 6. С. 305—310.
14. *Muller H.J.* The problem of genic modification // Verhandlung des V Internationalen Congress für Vererbungswissenschaften. 1927. Suppl. B. 1. S. 234—260.
15. *Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrük M.* Über die Nature der Genmutation und der Genstruktur. Berlin: Weidmannsche Buchhandlung, 1935. S. 189—285.
16. *Lea D.E.* Actions of radiations on living cells. Cambridge: Univ. Press, 1946. 312 p.
17. *Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G.* Biophysik. B. 1: Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig: S. Hirzel Verlag, 1947. 421 S.
18. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодин В.И.* Применение принципа попадания в радиобиологии. М.: Атомиздат, 1968. 226 с.
19. Материалы II Международного симпозиума по первичным и начальным механизмам биологического действия ионизирующих излучений на клетку. Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1989. 91 с.
20. *Астауров Б.Л.* Прямое доказательство ядерной природы биологического эффекта Х-лучей и независимости конечных последствий рентгенизации от первичных изменений цитоплазмы // Журн. общ. биологии. 1947. Т. 8. № 6. С. 421—441.
21. *Струнников В.А.* Относительный эффект первичных радиационных повреждений ядра и цитоплазмы половых клеток тутового шелкопряда // Цитология. 1960. Т. 2. С. 573.
22. *Mortimer R.K.* Radiobiological and genetic studies on a poliploid series (Haploid to Hexaploid) of Saccharomyces cerevisiae // Radiat. Res. 1958. V. 3. P. 312—325.
23. *Корогодин В.И., Близник К.М., Капульцевич Ю.Г. и др.* Роль плоидности в радиочувствительности клеток // Радиобиология. 1977. Т. 17. Вып. 5. С. 700—710.
24. *Корогодин В.И.* Проблемы пострадиационного восстановления. М.: Атомиздат, 1966. 391 с.
25. *Жестянников В.Д.* Восстановление и радиорезистентность клетки. Л.: Наука, 1968. 351 с.
26. *Лучник Н.В.* Биофизика цитогенетических поражений и генетический код. Л.: Медицина, 1968. 296 с.
27. *Жестянников В.Д.* Репарация ДНК и ее биологическое значение. Л.: Наука, 1979. 285 с.
28. *Томилин Н.В.* Генетическая стабильность клетки. Л.: Наука, 1983. 154 с.
29. *Корогодин В.И.* Кариотаксоны, надежность генома и прогрессивная биологическая эволюция // Природа. 1985. № 2. С. 3—14.
30. *Капульцевич Ю.Г.* Количественные закономерности лучевого поражения клеток. М.: Атомиздат, 1969. 228 с.
31. *Красавин Е.А.* Проблема ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989. 192 с.
32. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальнов М.И.* Введение в молекулярную радиобиологию. М.: Медицина, 1981. 318 с.
33. *McGrath R.A., Williams R.W.* Deconstitution in vivo of irradiated Escherichia coli deoxyribonucleic acid; the rejoining of broken pieces // Nature. 1966. V. 212. P. 534—535.
34. *Газиев А.И., Жестянников В.Д., Коноплянников А.Г. и др.* Открытие и изучение явления восстановления клеток и их генетических структур от повреждений, вызываемых ионизирующей радиацией. Пущино: ИБФ АН СССР, 1987. 39 с.
35. *Stadler L.J.* Genetic effects of X-rays in maize // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1928. V. 14. P. 69—75.
36. *Левитский Г.А., Араратян А.Г.* Преобразование хромосом под влиянием рентгеновских лучей // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. М., 1931. Т. 27. № 1. С. 265—303.
37. *Serebrovsky A.S.* General scheme for the origin of mutation // Amer. Nat. 1929. V. 65. № 687. P. 374—378.
38. *Корогодин В.И., Близник К.М., Капульцевич Ю.Г.* Закономерности формирования радиорас у дрожжевых организмов. Факты и гипотезы // Радиобиология. 1977. Т. 17. Вып. 4. С. 492—499.
39. *Александров И.Д.* Сравнительная кинетика генных мутаций и аберраций хромосом при облучении разных фаз сперматогенеза // Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: Наука, 1976. С. 68—75.
40. *Моссэ И.Б.* О разной модифицируемости выхода точковых и структурных радиационных мутаций у эукариот // Радиобиология. 1982. Т. 22. Вып. 3. С. 329—334.
41. *Корогодин В.И., Гудкова Н.К., Близник К.М.* Рецессивные летальные мутации и их роль в лучевой инактивации клеток (эксперименты на дрожжевых организмах) // Радиобиология. 1978. Т. 17. Вып. 4. С. 516—528.
42. *Александрова М.Н., Александров И.Д.* Радиационный локус-специфический мутагенез животных: генетические и радиобиологические аспекты // Тр. рабочего совещания по генетическому действию корпускулярных излучений. Дубна: ОИЯИ, 1989. С. 256—289.

43. *Kozubek S., Krasavin E.A., Amirtayev K.G. et al.* The induction of revertants by haevy particles and gamma-rays in Salmonella tester strains // Mutat. Res. 1989. V. 210. P. 221—226.
44. *Tokarova B., Amirtayev K.G., Kozubek S., Krasavin E.A.* Mutagenic action of heavy ions on Escherichia coli cells // Mutat. Res. 1989. V. 227. P. 199—205.
45. *Yang T.Ch., Craise L.M., Mei M., Tobias C.A.* Neoplastic cell transformation by charged particles // Radiat. Res. 1985. V. 104. P. 177—187.
46. *Гудков И.Н.* Клеточные механизмы пострадиационного восстановления растений. Киев: Наук. думка, 1985.
47. *Гуськова А.К., Байсоголов Г.Д.* Лучевая болезнь человека. М.: Медицина, 1971.
48. *Till J.E., McCulloch E.A.* A direct measurement of the radiation sensitivy of normal maus bone marrow cell // Radiat. Res. 1961. V. 14. P. 213.
49. *Ярмоненко С.П.* Радиобиология человека и животных. М.: Высш. шк., 1984. 367 с.
50. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Лучник Н.В.* О классификации возможных путей воздействия на общий эффект облучения // Тр. Ин-та биологии. Свердловск, 1957. Т. 9. С. 57.
51. *Корогодина Ю.В., Корогодин В.И.* Радиобиологические реакции малохромосомных амеб // Радиобиология. 1971. Т. 11. Вып. 6. С. 865—870.
52. *Корогодина Ю.В.* Интерфазная гибель дифференцирующихся нервных клеток. Исследования на куриных эмбрионах // Радиобиология. 1966. Т. 6. Вып. 4. С. 560.
53. *Пелевина И.И., Саенко А.С., Готлиб В.Я., Сынзыныс Б.И.* Выживаемость облученных клеток млекопитающих и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1985.
54. *Von Borstel R.C.* On the origin of spontaneous mutations // Japan. J. Genetics. 1969. V. 44. Suppl. 1. P. 102—105.
55. *Бычковская И.Б.* Проблема отдаленной радиационной гибели клеток. М.: Энергоатомиздат, 1986. 158 с.

Объединенный институт ядерных
исследований, Дубна