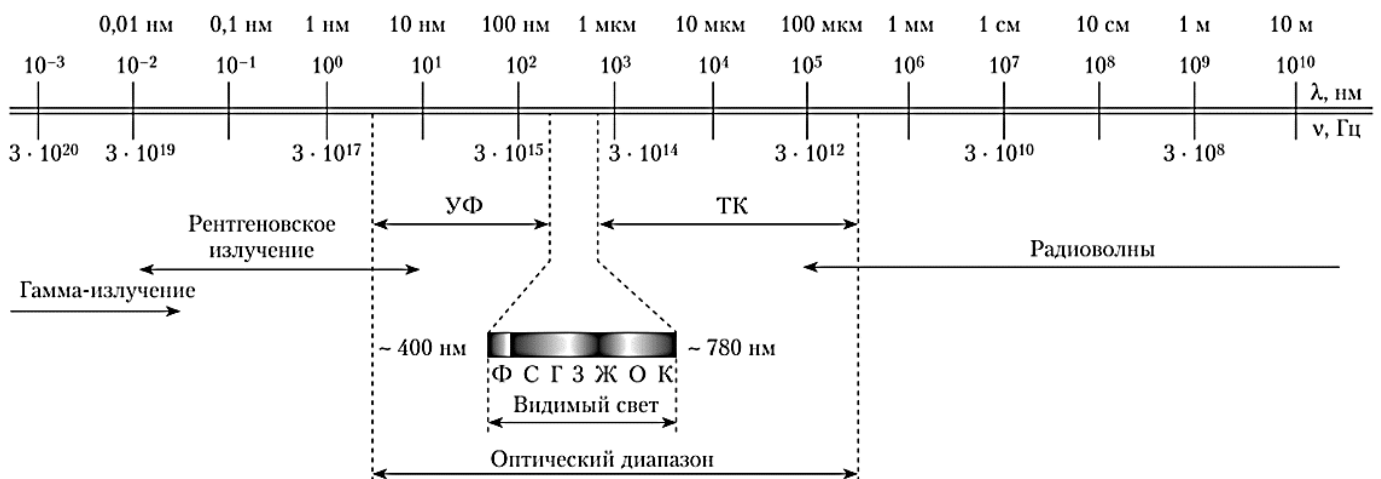


Предмет и метод радиационной биофизики. Актуальность исследования биологического действия ионизирующего излучения. Разделы радиобиологии

Радиационная биофизика – это наука, изучающая молекулярные механизмы биологического действия ионизирующего и неионизирующего излучения на органы, вычисляющие последовательную картину изменений, начиная от поглощенной энергии радиации отдельных молекул до сложных биологических изменений в клетке и органе.

Радиационная биофизика изучает радиобиологические проблемы с позиции биофизики. Если радиобиология изучает влияние излучения на биологические объекты, то биофизика изучает молекулярные взаимодействия, лежащие в основе нормальных и патологических жизненных явлений.

Ионизирующим излучением (проникающей радиацией) называют высокочастотные электромагнитные излучения энергетических фотонов, которые превышает величину потенциала ионизации больше, чем 10 эВ. К ионизирующему излучению относятся рентгеновское излучение и гамма-излучение.



$$E = h\nu \frac{hc}{\lambda}, 1\text{эВ} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{Дж}$$

$$E = 10 \text{ эВ} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{Дж}$$

$$\lambda = \frac{hc}{E} = \frac{6,6 \cdot 10^{-34} \cdot 3 \cdot 10^8}{1,6 \cdot 10^{-19}} = 1,2 \cdot 10^{-7} \text{м} = 120 \text{ нм}$$

Рентгеновское излучение и гамма-излучение отличаются по энергии, длине волны и по происхождению.

Рентгеновское излучение делится на *тормозное* и *характеристическое*.

Тормозное возникает при торможении заряженных частиц при большом ускорении. Энергетический спектр является непрерывным.

Характеристическое возникает при переходах между далеко расположенными энергетическими уровнями. Спектр излучения дискретный.

Гамма-излучение возникает либо при ядерных реакциях, либо при переходах в энергетических уровнях в ядрах.

Оптические излучения не способны к ионизации молекул, лишены высокой проникающей способности. К ионизирующему излучению также относятся: корпускулярные излучения, а именно: В-частицы, т.е. электроны, позитроны, протоны, а-частицы, так же нейтроны и др. частицы.

Актуальность исследования биологического действия ионизирующего излучения:

1. Все живое постоянно подвергается воздействию постоянного естественного радиационного фона

- космическая радиация
- излучение радиоактивных элементов, залегающих в поверхностных слоях земной коры и входящих в состав живых организмов и продуктов питания

2. В связи с техногенной деятельностью человека (взрывы, аварии) радиационный фон во многих регионах значительно выше естественного, поэтому возникает необходимость исследования влияния этого повышенного фона на здоровье и жизнь человека

3. Ионизирующее излучение используется как диагностическое и терапевтическое средство при многочисленных заболеваниях

Радиационная терапия основана на изучении механизмов взаимодействия излучения с веществом.

Радиобиология — это комплексная наука, в которой развиваются многие направления:

- 1) Радиационная экология и генетика
- 2) Радиационная биохимия и цитология
- 3) Радиационная медицина и генетика
- 4) Радиационная биофизика

Радиационная биофизика занимает особое место в радиобиологии. Она выясняет физико-химические и молекулярные механизмы первичных процессов лучевых изменений, протекающих с момента возникновения ионизирующего возбуждения атомов и молекул до появления видимых структурных и функциональных изменений.

Для решения этой задачи необходимо углубленный анализ процессов, проходящих после поглощения энергии квантов в живой системе, описание всех этапов в терминах молекулярных изменений и создание единой картины, отражающей всю последовательность реакций, приводящих в зависимости величины дозы к лучевым изменениям или поражениям.

История развития радиационной биофизики:

Пионеры радиобиологии. Открытие закона радиочувствительности клеток.

Открытие эффекта радиационного мутагенеза, непрямого действия ионизирующего излучения. Периоды в истории радиобиологии.

Радиобиология возникла после открытия рентгеновского излучения, которое произошло в конце 19 в.

В декабре 1895г., Рентгеном был сделан первый рентгеновский снимок кисти своей руки и рукопись с изложением об открытии катодных проникающих X-лучей, опубликовал свою работу о проникающих X –лучах.

В январе 1896 г. брошюра Рентгена «Новый род лучей» вышла в свет на нескольких языках, открытие стало достоянием мировой общественности.

Март 1896, Анри Беккерель обнаружил явление – самопроизвольное испускание невидимых глазу проникающих излучений (α , β и γ), исходящих от солей урана.

Через два года Мария и Пьер Кюри выделили из урановой смолы ранее не известные элементы, так же, подобно урану, испускающие излучения, которым они дали название радий и полоний. Для явления, свойственного этим, а в последующем другим подобным элементам был предложен термин **радиоактивность**.

Открытие урановых, а затем и ториевых лучей послужило началом исследований *естественной (природной) радиоактивности*.

1934г. Ирен Кюри и Фридерих Жулио Кюри открыли новое явление – искусственную радиоактивности (при исследовании ядерной реакции $^{27}\text{Al}(\alpha, n)^{30}\text{P}$ обнаружили образование нового, не встречающегося ранее в природе радионуклида – фосфора ^{30}P).

Петербургский физиолог Тарханов провел исследование на лягушках и насекомых и пришел к выводу, что X-лучами можно не только фотографировать, но и влиять на ход жизненных функций.

Ефим Лондон в 1896 году начал исследование по экспериментальной радиобиологии.

Первая официальная информация о патологическом влиянии радиации была опубликована в 1901 году, которая сообщила, что радий вызывает ожоги кожи.

Важными задачами радиобиологии в то время была необходимость точной и количественной оценки дозы радиации, вначале появились условные единицы биологических доз.

HED (кожная-эритемная доза)

В 1901 и последующие годы появилось множество работ о лучевом поражении кожи. В 1902 году описан первый случай лучевого рака кожи. Выяснилось, что возникающая радиация не только воздействует на кожу, но и вызывает лучевое поражение внутренних органов и тканей, а также гибель живых организмов и человека. Опыты Лондона в России и Хейкеля в Германии.

В Последующие годы выяснились сведения о высокой биологической эффективности нового вида излучений стимулировало мощный взрыв радиобиологических работ, характеризующий **начальный, описательный период в истории радиобиологии.**

В 1906 г. французские радиобиологи И. Бергонье и Л. Трибондо сформулировали фундаментальный **закон (правило) радиочувствительности клеток**: *ионизирующее излучение оказывает тем большее повреждающее действие на клетки, чем интенсивнее те делятся и чем менее определено выражены их морфология и функция, т. е. чем менее они дифференцированы.*

По мере накопления фактов становилось ясным, что ионизирующие излучения, в зависимости от интенсивности источника радиации и длительности облучения,

способны вызывать повреждения и гибель любого биологического объекта, любой биологической системы.

Начиная с 1910 г. М. И. Неменов и сотрудники публикуют работы по выяснению изменений обмена веществ при лучевом поражении и о сходстве лучевых изменений с процессами патологии раннего старения.

Первая в мире монография (Е. С. Лондон «Радий в биологии и медицине») вышла в свет в 1911 г. на немецком языке, а в 1968 г. переведена на русский язык в издательстве «Медицина».

В 1918 г. в Петербурге был открыт первый в стране радиобиологический Государственный институт рентгенологии и радиологии, организатором и директором стал рентгенолог М. И. Неменов.

В 1925 г. была наглядно показана важная роль биохимических процессов в развитии лучевого поражения. Анцель и Винтенбергер в опытах на куриных эмбрионах обнаружили, что интенсивность обменных процессов оказывается основополагающей в формировании проявлений лучевого поражения. Это наблюдение позволило авторам предсказать участие трех существенных моментов в развитии лучевого поражения:

- *наличие первичного радиационного повреждения;*
- *существование факторов, способствующих усилению этого повреждения;*
- *влияние восстанавливающих факторов.*

Постепенно формировалось представление, согласно которому степень лучевого поражения определяется не только интенсивностью первичного повреждения, но и физиологическим состоянием организма и характером метаболических процессов в нем. Для возникновения острой лучевой болезни должен произойти сложный комплекс взаимосвязанных изменений в организме, появление которых зависит от величины дозы, характера и способа облучения, от времени, прошедшего после лучевого воздействия и биологической особенности организма (его радиочувствительности).

Исследование динамики и механизмов формирования биохимических нарушений при лучевых поражениях заняло все дальнейшие годы развития радиобиологии и позволило собрать ценнейший материал для характеристики и классификации клинических проявлений радиационного эффекта. Это привело

исследователей к установлению количественных принципов, связывающих радиобиологические эффекты с дозой облучения.

В 20-е годы XX в. был открыт следующий, *второй период в развитии радиобиологии – период изучения механизмов действия ионизирующих излучений на биологические объекты и системы* и положено начало формированию *количественной радиобиологии*. Начались интенсивные поиски критических биологических молекулярных и клеточных структур, а также органов и тканей облучаемых организмов, ответственных за развитие лучевого поражения, ведущего к смертельному исходу.

Открытие радиобиологического парадокса: энергия ИИ несопоставима мала по сравнению с тем эффектом, который она вызывает (в тепловом измерении).

В 1925-1927 гг. советскими учеными Г.А.Надсоном и Г. С. Филипповым обнаружили в экспериментах на дрожжевых клетках, а позднее Г. Мёллером (США) на дрозофиле *эффекта радиационного мутагенеза*, проявляющегося не только в повреждении «*вещества наследственности*», но и в образовании стойких необратимых изменений в нем, передающихся по наследству. Были получены строгие доказательства возникновения мутаций под влиянием облучения.

С открытием мутагенного действия излучений многие радиобиологи перешли к изучению *единичной реакции дискретных биологических структур (генов, хромосом) на радиационное воздействие*. В это же время значительно совершенствуются методы дозиметрии излучений, вводится ионизационная единица дозы – *рентген*.

Появляется возможность количественного анализа биологического действия излучений, основанного на выяснении зависимости между наблюдаемым биологическим эффектом и дозой радиации, поглощенной изучаемой системой. Такие эксперименты проводились не только на ядерных наследственных структурах, но и на колониях клеток, вирусных частицах, препаратах ферментов. Результаты, полученные в точных количественных опытах, свидетельствовали о вероятностном характере проявления единичной реакции объекта в ответ на облучение в данной дозе радиации. Иначе говоря, при облучении однородных объектов (клетки одной линии, молекулы одного типа и т.д.) наблюдали, что при любой малой дозе радиации некоторое число объектов оказывается пораженным, а другие сохраняют исходные

свойства; *при самой большой дозе радиации небольшая доля объектов все еще остается непораженной. Кривые «доза-эффект» в этих случаях имели экспоненциальный характер* и их можно было надежно экстраполировать к нулевой точке.

Обнаруженный эффект нельзя было объяснить естественной вариабельностью: речь шла о генетически однородных клетках и вирусных частицах или молекулах одного типа. Его трактовка потребовала прежде всего, представлений о вероятностном характере поглощения энергии излучений, о дискретной природе частиц, составляющих ионизирующие излучения, о физически микрогетерогенной организации биологических структур.

Начало исследований в области количественной радиобиологии (20-е гг.) и стало рождением радиационной биофизики, так как впервые для объяснения радиобиологических феноменов и создания общей теории биологического действия ионизирующих излучений в качестве отправных концепций потребовалось использовать теоретические положения квантовой механики и ядерной физики.

В 1922 г. **Ф. Дессауэр**, предложил *теорию «точечного нагрева»*. Ионизирующие излучения обладают малой объемной плотностью, однако отдельные фотоны несут гигантский запас энергии. Ф. Дессауэр предположил, что при поглощении системой относительно небольшой общей энергии (смертельная для человека доза облучения вызывает нагрев тела всего на 0,001 С) некоторые дискретные микрообъемы поглощают настолько большие порции энергии, что действие ионизирующих излучений можно сравнить с таким микролокальным нагревом, который вызывает глубокие структурные изменения и в конечном счете биологическое поражение. Вероятностный характер проявления эффекта у отдельных объектов автор гипотезы объяснял статистическим распределением *«точечного тепла»*. Так впервые *физический принцип попадания был использован в исследованиях количественной радиобиологии*.

Дальнейшее его развитие связано с работами Дж. Кроутера, Д. Ли, К. Г. Циммера, Н. В. Тимофеева-Ресовского, В. И. Корогодина и др.

Работы этого периода оказали большое влияние на дальнейшее развитие радиационной биофизики, превратили ее в одну из самых точных биологических дисциплин. Математический аппарат, развитый в этих работах, позволил с

достаточной надежностью судить о «*пусковых событиях*», приводящих к регистрируемым в эксперименте биологическим реакциям (мутации, гибель клетки и др.) и оценивать параметры «мишени», ответственной за наблюдаемый радиобиологический эффект.

Согласно *принципу попадания*, начальный физический пусковой механизм, необходимый для возникновения конечной биологической реакции, обусловлен случайным взаимодействием ионизирующего излучения с веществом. В силу этого в каждую молекулу или клетку происходит неодинаковое число попаданий. С принципом попаданий тесно связана *теория мишени*, основанная на принципе гетерогенности строения живых систем, поражение излучением отдельных элементов которых имеет не одинаковое значение для данной системы. Например, необратимое повреждение уникальной клеточной структуры фатально для клетки, тогда как такое же повреждение иных, множественных структур для судьбы клетки может иметь существенно меньшее значение. В многочисленных работах получены новые факты высокой радиочувствительности делящихся клеток, клеточного ядра, молекулы ДНК.

Сейчас хорошо известно, что лучевые нарушения генетических структур могут проявляться как сразу после облучения, так и отдаленно, в потомках, даже спустя несколько поколений, становясь в организме причиной возникновения злокачественных опухолей, а также различных уродств развития.

Обнаруженный эффект можно объяснить, используя представления о *вероятностном характере поглощения* энергии излучений и о дискретной природе частиц, составляющих ионизирующие излучения.

Выяснилось, что даже при облучении в малых дозах происходит много тысяч актов ионизации молекул, но лишь некоторые из образовавшихся нарушений структуры и функции клеток приводят клетку к потере способности деления и гибели.

Критической мишенью клетки является молекула ДНК. Применение теории мишени ограничено. Конкретная ответная реакция на облучение зависит не только от попадания ДНК, но и от ряда свойств самого биологического объекта, например, от способности устранять повреждения - системный ответ клетки на облучение.

Системный ответ *носит статистический характер*. Важным направлением в статистической физике является создание математической модели, которая является

формализованным выражением теоретических закономерностей. Усовершенствование моделей связано с повышением доступности и быстродействием компьютеров.

Радиационная биофизика зародилась в 20 г. XX в., когда впервые для объяснения радиобиологических явлений стали использовать теоретические положения квантовой механики и ядерной физики.

В 1922 г. Ф. Дессауэр теория **«точечного нагрева»**: некоторые дискретные микрообъемы поглощают настолько большие порции энергии, что действие ионизирующих излучений можно сравнить с таким микролокальным нагревом, который вызывает биологическое поражение.

Согласно **принципу попадания** начальный физический пусковой механизм, необходимый для возникновения биологической реакции обусловлен случайным взаимодействием ионизирующего излучения с веществом.

С принципом попадания связана теория **мишени**, основанная на принципе гетерогенности. Необратимое повреждение уникальной клеточной структуры фатально для клетки, тогда как такое же повреждение других структур имеет меньшее значение.

Высокой радиочувствительностью обладают делящиеся клетки, клеточное ядро и молекула ДНК, причем лучевые нарушения клеточных структур могут проявляться как сразу, так и отдаленно в потоках.

В середине XX столетия после бомбардировок Хиросимы и Нагасаки начался **3 этап в развитии радиобиологии**. Происходит перенос акцентов в развитии радиологии и радиационной биофизики. Развиваются исследования молекулярных механизмов действия излучения. Этому способствовал ряд достижений в области биофизики и молекулярной биологии, а именно **доказательство биологической роли ДНК и расшифровка ее структуры**.

В 40-е гг. было обнаружено зарождение в облучаемом растворе высокоактивных продуктов **радиолиза воды** – свободных радикалов, способных диффундировать на значительные расстояния и поражать биологические структуры.

Радиационная биофизика начинает оперировать представлениями о **«непрямом действии»** излучения, опосредованном активными продуктами радиолиза воды.

Были изучены физико-химические свойства первичных продуктов радиолиза воды и характер их взаимодействия с макромолекулами клетки.

Это дало возможность приступить к исследованиям средств защиты (*радиопротекторов*) от действия ионизирующих излучений.

В 1942 г. В. Дейлу удается снизить поражающее действие радиации на ферменты введением в раствор ряда веществ – перехватчиков радикалов.

В 1949 была доказана способность ряда веществ защищать млекопитающих от лучевого поражения. В опытах Х. Патта с соавторами введение цистеина за 10 мин до облучения защищало крыс от неминуемой гибели.

В мире начинается интенсивный поиск эффективных радиозащитных препаратов. Формируется самостоятельное направление радиационной биофизики – выяснение механизмов модифицированной радиочувствительности биологических объектов.

Было установлено, что важную роль в радиозащитных препаратах играет понижение содержания кислорода в тканях.

В середине 60-х гг. З. Бак и П. Александер сформулировали *гипотезу «биохимического шока»*, согласно которой различные радиопротекторы однотипно изменяют метаболические процессы, переводя клетки в состояние повышенной устойчивости к действию ионизирующей радиации.

В дальнейшем появился ряд исследований, посвященных анализу конкретных биохимических изменений, возникающих под влиянием радиозащитных агентов и модифицирующих радиорезистентность организма. Возникли гипотезы «комплексного биохимического механизма действия радиозащитных средств», «сульфгидрильная гипотеза».

Исследования привели к накоплению обширного фактического материала по общей картине лучевого поражения и его модификации, они позволили наметить пути к выявлению основных закономерностей зарождения пусковых физико-химических процессов, механизмов ослабления или усиления первичных лучевых реакций. В результате на первый план вышли исследования, посвященные анализу физико-химических процессов, протекающих в клетке от момента возникновения начальных структурных повреждений до проявления выраженных биохимических и морфологических изменений.

Анализируется модифицирующее действие кислорода, температуры и других агентов, влияющих на развитие лучевого поражения биологических объектов.

Авария на Чернобыльской АЭС в 1986 г., снятие секретов с информации о ее последствиях, последствиях других радиационных аварий и ядерных испытаний открыли новый, ***четвертый период в истории радиобиологических исследований.***

Для решения проблем, возникших после Чернобыльской катастрофы, накопленные знания и имеющийся опыт традиционной радиобиологии и медицины оказываются явно недостаточными, и поэтому в современной радиобиологии стали быстро развиваться новые направления:

- изучение биологического действия излучений в малых дозах и отдаленных последствий облучения;
- исследование комбинированного действия широкого спектра радионуклидов с химическими загрязнителями среды;
- поиск принципиально новых средств защиты от хронического облучения.

Перед радиационной биофизикой возникли новые задачи. Наиболее важными оказались фундаментальные исследования механизмов радиобиологических эффектов, вызываемых слабыми воздействиями, поскольку оказалось, что эффекты, вызываемые ионизирующими излучениями в малых дозах, нельзя оценивать путем простой экстраполяции в область малых доз данных, полученных при больших дозах.

Открылись **принципиально новые явления при изучении эффектов малых доз**. Это и повышенная чувствительность биообъектов к воздействию радиации в сверхмалых дозах, переходящая к повышенной радиорезистентности – **адаптивному ответу** – при более высоких нелетальных дозах. Это и *стимулирующее действие излучений на рост, развитие и другие физиологические показатели (эффект гормезиса)*, а также *необычное снижение выраженности радиобиологических эффектов по мере увеличения мощности малой дозы (обратный эффект мощностей доз)*.

Кривая зависимости **доза - эффект** в области малых доз синусоидальная.

Большое значение приобретают исследования механизмов регуляции, происходящих в БМ и ДНК и образующихся в них под действием ионизирующих излучений оксирадикалов и других продуктов окисления.

На рубеже столетий было открыто важное явление: *способность облученной клетки передавать путем контактов или секреции сигналы, действующие на соседние необлученные клетки подобно облучению - эффект свидетеля.*

Современный период диктует новые переходы к разработке методов химической защиты. Появилась необходимость в исследованиях пищевых продуктов и препаратов, способных, не оказывая вредного побочного действия на организм снижать или предотвращать хроническое низкоинтенсивное облучение. Большое внимание уделяется средствам, выводящим радионуклиды из организма.

Ионизирующие излучения. Их характеристика. Виды ионизирующих излучений. Линейная передача энергии излучения

К ионизирующим излучениям относят: фотоны электромагнитного излучения ($\lambda < 20\text{нм}$) и корпускулярное излучение, т.е. ускоренные частицы и ядра электронов.

Фотонное излучение делится на: *рентгеновское* (до 500 кэВ) и *γ -излучение* (более 500 кэВ).

Рентгеновское:

- <50 кэВ- мягкое;
- >50 кэВ- жесткое.

$$\varepsilon_{\phi} = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

$$\lambda = \frac{hc}{\varepsilon_{\phi}} = \frac{6,6 \cdot 10^{-34} \cdot 3 \cdot 10^8}{50 \cdot 1,6 \cdot 10^{-19}} = 0,25 \cdot 10^{-7} = 25 \cdot 10^{-9}\text{м} = 25\text{нм}$$

От 25нм до $2,5 \cdot 10^{-3}\text{нм}$ рентгеновское излучение.

Рентгеновское излучение возникает двумя путями:

- 1) характеристическое рентгеновское излучение – при переходах между далеко расположенными энергетическими уровнями;
- 2) тормозное рентгеновское излучение возникает при торможении частиц высоких энергий (кинескоп).

γ -излучение – электромагнитное излучение, возникающее при ядерных реакциях. От 50кэВ до 10МэВ

Эти диапазоны энергии излучений перекрываются и отличаются по происхождению.

Рентгеновское возникает:

- при переходах между далеко расположенными уровнями в атоме (характеристическое рентгеновское излучение),
- либо при торможении быстрых частиц (тормозное излучение).

γ -излучение – излучение, которое возникает:

- при переходах при различных ядерных превращениях,
- либо при переходах в ядрах.

К корпускулярному излучению относят электроны, позитроны, нейтроны, α -частицы, протоны, ускоренные ионы, ядерные фрагменты и осколки деления ядер, а также многие нестабильные частицы.

К электронному излучению относят β -частицы (электроны с энергией 0,002–2,3 МэВ, возникающие при распаде радиоактивных ядер) и ускоренные электроны, которые создаются ускорителями электронов (с энергией от кэВ до сотен МэВ).

Ядра атома гелия называются α -частицами, когда они образуются при распаде некоторых радионуклидов и несут энергию до ~ 10 МэВ. Те же ядра, ионизированные и ускоренные, образуют пучки ионов гелия. Эти и другие пучки заряженных частиц – протонов, дейтронов и вообще любых многозарядных тяжелых ионов (например, углерода) – получают в протонных и ионных ускорителях. На них при облучении мишеней получают также пучки нейтральных частиц – фотонов и нейтронов, и даже пучки радиоактивных ионов.

Наиболее интенсивные потоки нейтронов получают при делении ядер урана и плутония в ядерном реакторе, а также в нейтронных генераторах. Нейтроны деления имеют широкий спектр энергий с максимумом при 1–2 МэВ.

Линейная передача энергии излучения

Путь частицы в веществе можно наблюдать по произведенному ей эффекту. **Ионизирующий след** заряженной частицы называют *треком*. Действие ионизирующего излучения на вещество характеризуется с помощью **ЛПЭ - линейной передачи энергии**.

ЛПЭ – величина, равная средней потере энергии частицы на единицу пути первичной заряженной частицы в пределах объема ее трека; измеряется в кэВ/мкм.

Обычно принимается, что вещество – это вода с плотностью 1 г/см^3 , и поэтому ЛПЭ измеряется в единицах кэВ/мкм. Таким образом, вводится различие между ЛПЭ и удельными ионизационными потерями энергии частицы, в которых учитывается не только выделенная локально, но и вся энергия, потерянная при прохождении частицей 1 г/см^2 вещества.

Характерной величиной является $0,2 \text{ кэВ/мкм}$ (к этой минимальной величине довольно близки ЛПЭ в очень широком диапазоне – для электронов всех энергий и фотонов выше 0.5 МэВ).

Еще одно различие: по мере прохождения частиц вглубь среды их энергия изменяется как бы непрерывно, то есть часто теряется малыми порциями за счет ионизации атомов среды. Иначе происходит изменение энергии фотонов и нейтронов – это более редкие события, обычно с большой передачей энергии сразу, без образования треков, и проследить, как меняется энергия частицы, становится трудно. Поэтому к ним вообще не применяется понятие ионизационных потерь энергии, а говорить об ЛПЭ фотонов или нейтронов можно всегда, это практически удобно. В этом и заключается причина, почему радиационная физика перешла на «язык ЛПЭ» (линейных передач энергии).

Когда говорят просто об удельных потерях энергии частицы ($-dE/dx$; знак минус часто не ставится), то обычно подразумевают «ионизационные потери».

При делении линейных потерь энергии на плотность вещества ρ получаем значение $(-dE/dx)/\rho$, которое не зависит от плотности. Эту величину тоже можно называть тормозной способностью вещества, или даже ЛПЭ, и тогда она измеряется в $\text{МэВ/см}^2 \cdot \text{г}^{-1}$.

Зная ЛПЭ, легко определить среднее число ионов, образованных на единицу пути частицы. Для этого достаточно разделить значение ЛПЭ на величину энергии, необходимой для образования одной пары ионов (W). Отношение L/W называют *линейной плотностью ионизации* (ЛПИ).

Точное значение W тканей определить трудно. Для газов значение W было измерено многими исследователями, оно составляет около 34 эВ .

$$\text{ЛПИ} = \frac{\text{ЛПЭ}}{W}, \quad W - \text{энергия, необходимая для образования одной пары ионов}$$

($W=34\text{эВ}$).

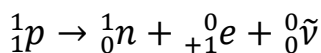
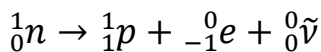
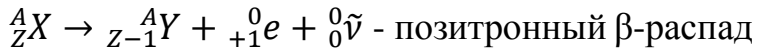
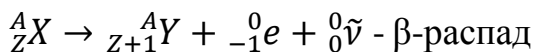
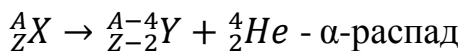
Для оценки **плотности ионизации**: $\text{ЛПИ} = \frac{\text{ЛПЭ}}{34}$

Чем выше ЛПЭ, тем больше теряет энергии частица на единицу пути, тем плотнее распределены ионы вдоль трека.

Радиоактивность. Изотопы. Закон радиоактивного распада. Типы радиоактивного распада (α - и β -распад)

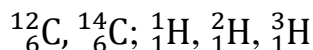
Радиоактивность – явление, которое заключается в самопроизвольном превращении (распаде) атомных ядер некоторых химических элементов в атомные ядра других элементов с испусканием особого рода излучения.

α -ядра гелия, β -поток электронов.



Реакция электронного β -распада проходит естественным путем, в отличие от позитронного β -распада.

Изотопы: У многих электронов ядра могут иметь несколько разновидностей, отличающихся числом нейтронов в ядре и их называют **изотопами**.



$$N = N_0 * e^{-\lambda t} \text{ закон радиоактивного распада}$$

$N = N_0 * 2^{-\frac{t}{T}}$, где **T** это период полураспада, **N** число нераспавшихся ядер спустя время **t**

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T}$$

Дозиметрия и дозовые величины. Единицы радиоактивности. Активность радиоактивного элемента. Экспозиционная доза излучения. Поглощенная доза излучения. Эквивалентная доза излучения. Эффективная доза излучения.

Дозиметрия – раздел физики, изучающий воздействие ионизирующих излучений на объекты живой и неживой природы, а также методы измерения действия излучения.

Множи- тель	При- ставка	Обозначение	
		рус- ское	между- нар.
10^{18}	экса	Э	E
10^{15}	пета	П	P
10^{12}	тера	Т	T
10^9	гига	Г	G
10^6	мега	М	M
10^3	кило	к	k
10^2	гекто	г	h
10^1	дека	да	da

Множи- тель	При- ставка	Обозначение	
		рус- ское	между- нар.
10^{-1}	деци	д	d
10^{-2}	санти	с	c
10^{-3}	милли	м	m
10^{-6}	микро	мк	μ
10^{-9}	нано	н	n
10^{-12}	пико	п	p
10^{-15}	фемто	ф	f
10^{-18}	атто	а	a

Количество радиоактивного вещества определяется не только массой, но и активностью.

Активность радионуклида

Активность (A) – это мера радиоактивности какого-либо количества радионуклида, находящегося в данном энергетическом состоянии в данный момент времени.

$A = \frac{dN}{dt}$, где **dN** – ожидаемое число спонтанных ядерных превращений из данного энергетического состояния за промежуток времени **dt**.

Активность – это мера радиоактивности, равная среднему числу распадов в единицу времени.

В СИ: [A] = 1Бк (Беккерель)

1Бк → 1 распад за 1с

Внесистемная единицы: 1 Кюри – это активность 1 г радия.

1 Кю = $3,7 \cdot 10^{10}$ Бк, 1 Бк = $2,7 \cdot 10^{-11}$ Ки

Концентрация активности радиоактивного вещества часто определяется величиной удельной A_m (или объемной A_v) активности, представляющей отношение активности (A) радионуклида в исследуемом веществе к его массе (m) или объему (V).

Экспозиционная доза излучения

Размерность экспозиционной дозы – это заряд, возникающий в единице массы поглотителя.

Экспозиционная доза (X) - это количественная характеристика ионизирующей способности рентгеновского или γ -излучения в воздухе (в диапазоне энергий излучения от десятков кэВ до 3 МэВ), измеренная по количеству образованных зарядов {пар ионов) в воздухе по формуле $X = \frac{dq}{dm}$, где dq –полный заряд ионов одного знака, возникающих в сухом воздухе при торможении всех вторичных электронов, образованных фотонами в малом объеме воздуха; dm – масса воздуха в этом объеме.

В СИ: $[X] = \frac{\text{Кл}}{\text{кг}}$ (в кулонах на килограмм воздуха). На практике применяется внесистемная единица: 1 Рентген.

$$1 \text{ Р} = 2,58 \cdot 10^{-4} \text{ Кл/кг}, 1 \text{ Кл/кг} = 3876 \text{ Р}$$

Для характеристики распределения во времени экспозиционной дозы используют величину **мощности дозы**. $1 \text{ Р/с} = 2,58 \cdot 10^{-4} \text{ А/кг}$, $1 \text{ А/кг} = 3876 \text{ Р/с}$

Общая формула, связывающая величину экспозиционной дозы излучения X с активностью препарата A : $X = \frac{AtK_\gamma}{R^2}$, где **активность A** выражается в мКюри, **t** – время облучения в часах; **K_γ** – γ -постоянная данного изотопа в Р/ч; расстояние от источника излучения до измеряемого объекта **R** в см. При этом доза излучения будет выражена в рентгенах.

Поглощенная доза

Для оценки действия облучения на живые системы используют понятие поглощенной дозы **D** .

D – это величина энергии ионизирующего излучения, переданная веществу.

$$D = \frac{d\bar{e}}{dm} - \text{равна энергии ионизирующего излучения, переданной 1 кг вещества.}$$

где $d\bar{e}$ – средняя энергия, переданная ионизирующим излучением веществу, находящемуся в элементарном объеме, а dm – масса вещества в этом объеме.

На пучке заряженных частиц (электроны, протоны и др.) поглощенная доза рассчитывается из следующего соотношения: $D = 1,602 \cdot 10^{-10} \cdot L\Phi$, где L – средняя ЛПЭ в единицах $\text{МэВ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{см}^2$, Φ – флюенс частиц, то есть отношение dN/dS , если dN – количество частиц, падающих на площадку $dS \text{ см}^2$. Множитель $1,602 \cdot 10^{-10}$ численно равен заряду электрона.

Энергия может быть усреднена по любому определенному объему, и в этом случае средняя доза будет равна полной энергии, переданной объему, деленной на массу этого объема.

$$\text{В СИ: } [D] = \frac{\text{Дж}}{\text{кг}} = \text{Грей}, 1 \text{ Гр} = 1 \frac{\text{Дж}}{\text{кг}}$$

Один Грей – это поглощенная доза ионизирующего излучения любого вида, при которой в 1 кг массы вещества поглощается 1 Дж энергии излучения.

Используется так же и понятие мощности поглощенной дозы: $[1 \text{ Гр/с}]$.

Существует внесистемная единица: $1 \text{ рад} = 1 \cdot 10^{-2} \text{ Гр}$, $1 \text{ Гр} = 100 \text{ рад}$.

Эквивалентная доза излучения

Величина поглощенной дозы учитывает только энергию, абсорбированную облученным объектом. Понятие качество излучения выражает способность излучения производить различные радиационные эффекты в зависимости от сорта частиц и от его ЛПЭ.

При воздействии различных видов излучения принято вычислять **эквивалентную дозу излучения** H_{TR} – поглощенной в органе или ткани дозы, умноженной на соответствующий взвешивающий коэффициент для данного вида излучения W_R : $H_{TR} = W_R \cdot D_{TR}$, где D_{TR} – средняя поглощенная доза в органе или ткани T , а W_R – взвешивающий коэффициент для излучения типа R (тип ткани T в этом случае не учитывается).

При воздействии различных видов излучения эквивалентная доза определяется как сумма эквивалентных доз для этих видов излучения с их взвешивающими коэффициентами: $H_T = \sum_R H_{TR}$

Значения взвешивающих коэффициентов:

$W_R = 1$ - для фотонов, электронов, мюонов.

$W_R = 5$ – для нейтронов $< 10\text{кэВ}$ или протонов.

$W_R = 10$ – для нейтронов $< 100\text{кэВ}$.

Единицей эквивалентной дозы является **Зиверт** $[Зв] = [\frac{Дж}{кг}]$.

Внесистемной единицей является **бэр** - биологический эквивалент рада.

$1Зв = 100\text{ бэр}$, $1\text{ бэр} = 1 \cdot 10^{-2}Зв$

Эффективная доза облучения

Еще одним типом взвешивающих коэффициентов W_T для оценки радиочувствительности биологических систем является ***эффективная доза облучения*** – это величина, используемая как мера возникновения риска отдаленных последствий облучения всего тела человека и отдельных его органов и тканей с учетом радиочувствительности.

Она представляет сумму произведений эквивалентной дозы в органах и тканях на соответствующие взвешивающие коэффициенты: $E = \sum_T W_T * H_T$, где H_T – эквивалентная доза в органе или ткани T , W_T – взвешивающий коэффициент для органа или ткани T .

Эффективные дозы измеряются так же, как и эквивалентные, в бэрах и зивертах.

Орган или ткань	Значение коэффициента W_T
Гонады	0.20
Костный мозг (красный)	0.12
Толстый кишечник (прямая, сигмовидная, нисходящая)	0.12
Легкие	0.12
Желудок	0.12
Мочевой пузырь	0.05
Грудная железа	0.05
Печень	0.05
Пищевод	0.05
Щитовидная железа	0.05
Кожа	0.01
Клетки костных поверхностей	0.01
Остальные	0.05
Сумма всех W_T	1.00

Методы дозиметрии. Приборы для регистрации ионизирующих излучений.

Доза ионизирующих излучений измеряется с помощью различных физических и химических методов:

- Ионизационный;
- Калориметрический;
- Сцинтилляционный;
- Химический;
- Люминесцентный;
- Твердотельный;
- Трековый.

Метод ионизационной камеры

Заряды ионов, образованные в газе, помещенном в поле электрического конденсатора, собираются на его электродах и создают электрический ток ионизационной камеры. Детектор такого типа может измерять поглощенную дозу на основе принципа Брегга-Грея.

Дозиметрический прибор:

1. Детектор
2. Преобразующее устройство
3. Устройство отображения информации (счётчик Гейгера)

Если размеры полости достаточно малы по сравнению с длиной пробега частиц, то ионизация, происходящая в полости, связана с энергией, поглощенной в окружающем полость в веществе, соотношением:

$$\frac{\Delta E}{\Delta m} = \omega \cdot N \cdot \frac{S_m}{S_G}, \text{ где } \frac{\Delta E}{\Delta m} - \text{энергия, поглощенная единицей массы вещества,}$$

окружающую полость, N – число пар ионов, образованный в единице масс полости, ω – средняя энергия, затрагиваемая на образование одной пары ионов в газе, S_m и S_G – массовые тормозные способности среды и газа соответственно (в единицах МэВ * г⁻¹см²).

Энергия, поглощенная единицей массы вещества, зависит от числа пар ионов, от средней энергии и от свойств среды и газа.

При измерениях на пучке быстрых нейтронов действует тот же принцип, только речь идет не о пробегах электронов, пересекающих полость, а о пробегах нейтронов.

Калориметрический метод

Метод основан на измерении количества тепла, создаваемого поглощенной энергией излучения.

Образец из углерода или воды с помещенным в него полупроводниковым детектором помещается в термостат и калибруется по току электрического нагревателя с помощью высокочувствительного электрометрического прибора. Выбор материала зависит от требований к эксперименту: вода по тканеэквивалентности лучше, чем графит, но возможность затраты части энергии излучения на электролиз требует особых предосторожностей. Так или иначе, калориметрический метод лучше других удовлетворяет требованиям так называемой абсолютной дозиметрии. Нагрев тел чрезвычайно мал: так, доза 5 Гр повышает температуру тела только на 10^{-3} °С. Отсюда понятно, что нагрев организма не определяет биологического действия излучений.

Необходимость измерять чрезвычайно малые изменения температуры ограничивает применимость метода лабораторными условиями.

Сцинтилляционный метод

Световой выход ряда веществ (сцинтилляторов) линейно зависит от поглощенной дозы в достаточно широком диапазоне доз. Такие вещества в сочетании с фотоэлектронным умножителем используют в качестве дозиметров. В каждом случае стараются максимально приблизить химический состав вещества-поглотителя и сцинтиллятора, т.е. сделать его «тканеэквивалентным».

Химический метод

Любую радиационно-химическую реакцию, выход которой зависит от дозы ионизирующего излучения, можно использовать для определения поглощенной дозы. Необходимо, чтобы такая реакция не зависела от мощности дозы, от плотности ионизации и могла происходить в системах, по составу близких к биологическим тканям. Тип выбираемой реакции определяется диапазоном измеряемых доз. Так, дозы

более 10^6 Гр определяют по окрашиванию кристаллов и стекол, дозы от 10^4 до 10^5 Гр – по реакциям в жидкой фазе, дозы менее 10^4 Гр – по обесцвечиванию ряда красителей. В последнее время для дозиметрии в широком диапазоне доз 10 - 10^5 Гр) используется образование свободных радикалов в аланине, которые измеряются методом ЭПР (Л. А. Блюменфельд, А.Н. Тихонов, 1997).

Один из наиболее распространенных химических дозиметров – «дозиметр Фрике» –обеспечивает измерение доз в диапазоне 4-400 Гр. Мерой поглощенной дозы служит концентрация соли трехвалентного железа, в которую при облучении водного раствора переходит соль двухвалентного железа. Применяются также цериевый, хроматный, хлорбензольный, щавелевокислотный, глюкозный и другие дозиметры.

Поглощение энергии ионизирующих излучений. Принцип Гроттгуса.

Дискретный характер поглощения энергии. Энергетический парадокс в радиобиологии.

Прохождение через вещество фотонов рентгеновского или γ -излучения, потока нейтронов, электронов или ускоренных ядер элементов может привести к поглощению части энергии этим веществом.

При облучении живой материи наблюдаются биологические последствия радиационного воздействия. При этом в радиобиологии выполняется общий *принцип Гроттгуса*, согласно которому *только та часть энергии излучения может вызвать изменения в веществе, которое поглощается этим веществом. Энергия отраженного или проходящего сквозь вещество излучения не оказывает действия*. В силу этого принципа возникает различие между *экспозиционными* и *поглощенными* дозами и между удельными потерями энергии ЛПЭ (линейная передача энергии).

Принцип Гроттгуса учитывается при построении дозного распределения излучения (дозного поля), которое осуществляют лучевые терапевты, чтобы определить область мишени (злокачественной опухоли) и совместить ее границы областью 90% изодозой.

Под *изодозой* понимают линии, проведенные через точки с одинаковой поглощённой дозой. При прохождении ионизирующих излучений через вещество выделение энергии происходит в определённых редко расположенных микрообъектах,

при этом обмен энергией между излучателем и поглощением носит дискретный, вероятностный характер.

Вероятностный характер поглощения энергии приводит к тому, что ряд радиоактивных величин описывается в терминах статистически. Вероятностный характер связан с дискретным характером, т.е. в живом организме различные объемы получают дискретные порции энергии, причем этот процесс носит вероятностный характер.

Энергетический парадокс в радиобиологии

Можно установить зависимость между величиной поглощённой энергии и биологическим эффектом облучения. Например, установлено, что при однократном поглощении радиации в дозе 7-10 Гр возникает острая лучевая болезнь и гибель млекопитающих.

Поглощение дозы в 1 Гр составляет поглощение 1 Дж одним кг ткани. Если такую энергию сообщить в виде теплового излучения, то повышение температуры тела будет менее, чем на $\Delta 0,002^{\circ}\text{C}$, то есть эта энергия очень мала.

Возникает энергетический парадокс, который, состоит несоответствие между количеством энергии, поглощаемой тканями и биологическими последствиями, к которым приводит облучение.

Для понимания этого парадокса надо рассмотреть физические процессы, в ходе которых осуществляется передача энергии ионизирующих излучений атомами и молекулами вещества.

Относительная биологическая эффективность разных видов ионизирующего излучения (ОБЭ)

Для количественной оценки разных видов ионизирующего излучения вводится коэффициент, который сравнивает эффективность данного типа излучения с выбранным стандартным излучением. В качестве стандартного выбрано рентгеновское излучение с энергией $E=200\text{кэВ}$.

Коэффициент ОБЭ находится по формуле:

$$\text{ОБЭ} = \frac{\text{БЭ исследуемого излучения}}{\text{БЭ стандартного излучения(рентген.)}}$$

$$\text{ОБЭ} = \frac{\text{биологическая эффективность исследуемого излучения}}{\text{биологическая эффективность рентгеновского излучения с энергией } \approx 200 \text{ кэВ}} = \frac{\text{поглощенная доза, необходимая для получения данного биологического эффекта при действии рентгеновского излучения 200 кэВ (в греях)}}{\text{поглощенная доза исследуемого излучения, необходимая для получения того же биологического эффекта (в греях)}}$$

ОБЭ равна отношению поглощённой дозы излучения, необходимой для получения данного биологического эффекта, при действии рентгеновского излучения в 200кэВ к поглощённой дозе исследуемого излучения, необходимого для получения такого же биологического эффекта.

Для гибели мыши – 4 Гр, для нас – в 2 раза меньше.

В ходе эксперимента оказалось, что стандартное рентгеновское излучение в дозе 8 Гр приводило к появлению катаракты у 50% мышей. Такой же эффект достигается при нейтронном излучении 0,5 МэВ в дозе 2 Гр. Следовательно, ОБЭ для такого излучения = 4.

Механизмы процессов поглощения рентгеновского и гамма – излучения:

а) Фотоэффект,

б) Эффект Комптона,

в) Образование электрон-позитронных пар.

Механизм поглощения рентгеновского и γ -излучения

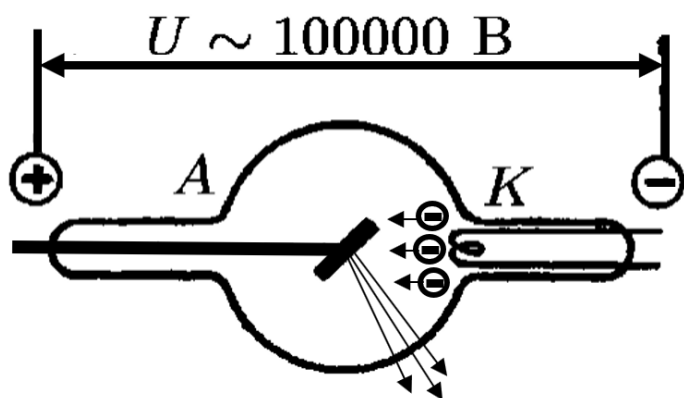
Рентгеновское излучение – это коротковолновое ЭМГ излучение, которое может генерироваться при торможении ускоренных электронов в кулоновском поле ядер атомов вещества поглотителя. Электроны, испытывающие торможение в состоянии с законами электродинамики, излучают ЭМГ-волны, в зависимости от величины ускорения частицы. При энергии электрона выше 20 МэВ потеря энергии на излучение становится почти пропорциональной самой энергии:

$$\left(-\frac{dE}{dt}\right)_{\text{радиац}} \sim Z^2 (E_k + m_0 c^2) * N, \text{ где } E_k \text{ – кинетическая энергия электрона, } Z \text{ –}$$

заряд ядра материала поглотителя, N – число атомов в 1 см^3 поглотителя. Из этого

соотношения следует, что энергия квантов рентгеновского излучения пропорциональна поглощенной энергии и находится в квадратной зависимости от атомного номера вещества поглотителя.

Это учитывается при конструировании рентгеновских трубок, в которых электроны преобразуют высокую энергию при ускорении в электрическом поле, создаваемом за счет высокого напряжения между катодом и анодом.



Анод изготавливается из материалов с большим атомным номером. В кулоновском поле в атомах анода происходит тормозное ускорение электронов, при этом возникает рентгеновское излучение. При бомбардировке анода электронами, только

0,2% их кинетической энергии испускаются в виде квантового рентгеновского излучения, а остальная энергия рассеивается в виде тепла. Поэтому необходимо надежное охлаждение рентгеновских трубок.

γ-излучение – ЭМ излучение с малой длиной волны ($\lambda < 0,1$ нм), которое возникает при ядерных реакциях, распаде элементарных частиц и аннигиляции пар частиц.

Аннигиляция – взаимное уничтожение элементарных частиц с образованием γ-излучения. Например, аннигиляция электрона и позитрона.

Тормозное излучение представляет собой излучение со сменным спектром.

В биологических исследованиях в качестве источника γ-излучения используют радиоактивный изотоп кобальта ^{60}Co . Такой источник кобальтового излучения называется **кобальтовой пушкой**.

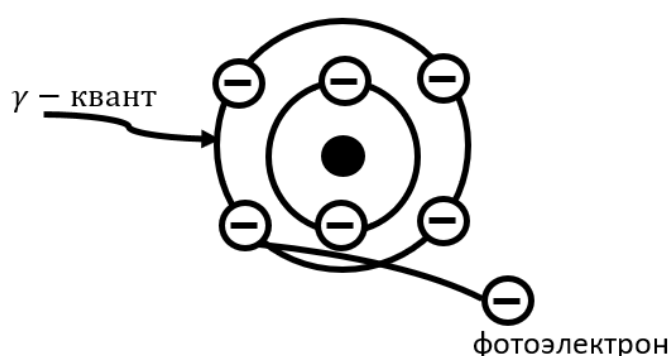
γ-кванты генерируются в процессе радиоактивного распада ^{60}Co и ^{60}Ni . Возбужденное ядро Ni переходит в стабильное состояние с последующим испусканием γ-квантов с энергией $E_1 = 1,17$ МэВ; $E_2 = 1,33$ МэВ

Рентгеновское и γ-излучение различают по происхождению, т.е. рентгеновское излучение генерируется при торможении ускоренных электронов в кулоновском поле ядер атомов, γ-излучение испускается при ядерных реакциях и аннигиляции частиц. Ослабление интенсивности и рентгеновского, и γ-излучения описывается законом:

$I = I_0 * e^{-NSl}$, где I_0 - интенсивность излучения до прохождения слоя толщиной l ; I - интенсивность излучения после прохождения слоя толщиной l ; N - плотность частиц, число частиц в 1 см^3 ; S - эффективное сечение, которое характеризует вероятность процесса взаимодействия;

Энергия квантов рентгеновского и γ -излучения поглощается веществом в результате одного из следующих процессов:

- 1) Фотоэффект (0,1 МэВ)
- 2) Эффект Комптона
- 3) Эффект образования электронно-позитронных пар



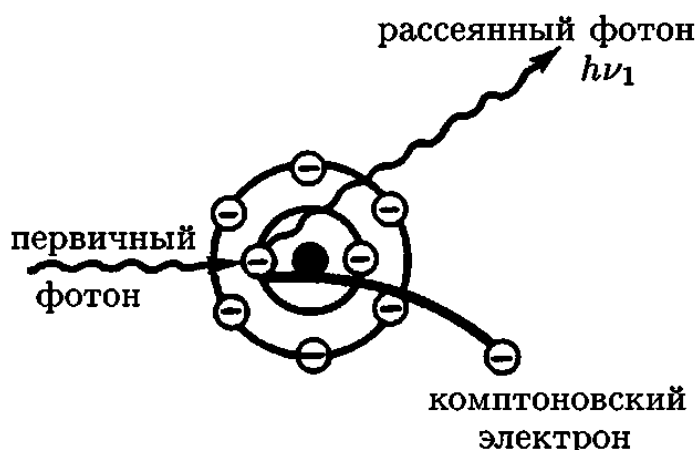
1) **Фотоэффект** (Фотоэлектрический эффект) – явление вырывания электронов из вещества под действием электромагнитного излучения.

$$h\nu = A_{\text{вых}} + E_k$$

$h\nu$ – энергия падающего фотона,

$A_{\text{вых}}$ – работа выхода, E_k – кинетическая энергия.

При фотоэффекте квант излучения полностью передает атому энергию, ее достаточно, чтобы атом испустил электрон.



2) **Эффект Комптона** – явление изменения длины волны рассеянного рентгеновского излучения, при его рассеянии на свободных электронах.

Эффект Комптона наблюдается в том случае, когда энергия фотонов

много больше энергии связей электронов. $\epsilon_{\text{ф}} \gg \epsilon_{\text{св}}$

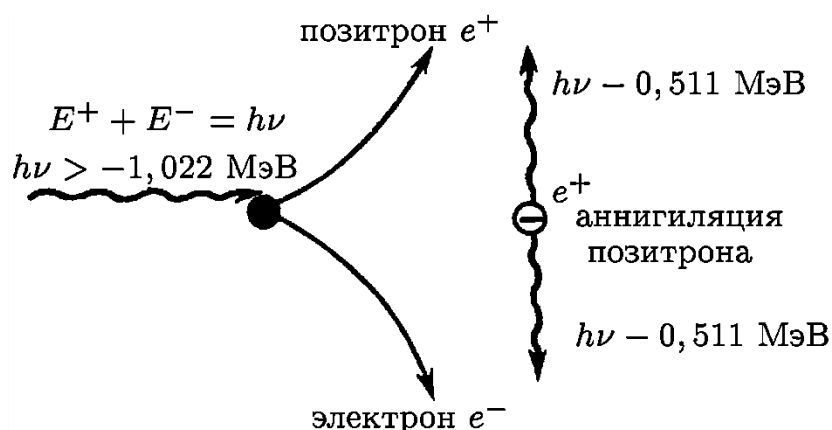
Эффект Комптона можно рассматривать как результат упругого соударения кванта с электроном. При этом квант отдает электрону не всю энергию, а лишь часть, причем сам он продолжает движение в качестве рассеянного кванта в новом направлении и с меньшей энергией. В отличие от фотоэлектрона, комптон-электрон

(его еще называют электроном отдачи) приобретает не всю энергию первичного кванта.

$$\varepsilon\phi = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

В воде или биологических тканях поглощение излучения с $\varepsilon=300$ кэВ в основном происходит за счет эффекта Комптона.

3) Образование электрон-позитронных пар



Если энергия падающего кванта превышает $E_\phi > 1,022 \text{ МэВ}$, то становится возможным образование электронно-позитронных пар

$E_0 = 0,511 \text{ МэВ}$ – энергия поглощенного электрона.

Электронно-позитронные пары образуются в результате взаимодействия кванта излучения с кулоновским полем ядра: квант с высокой энергией, приближаясь к полю ядра атома, исчезает, одновременно возникает пара элементарных частиц:

$$h\nu \rightarrow e^+ + e^-$$

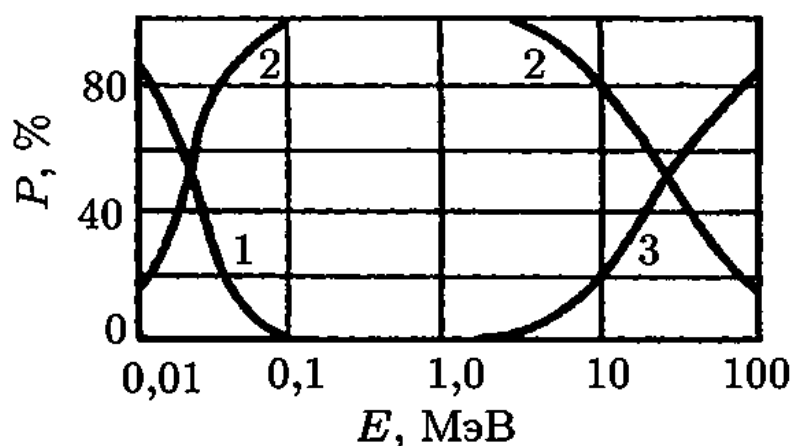
Вся энергия падающего кванта используется на образование пары, причем энергия, равная 1,022 МэВ, всегда преобразуется в «массу покоя» элементарных частиц, а остаток – в их кинетическую энергию:

$$E_{\text{кин.}e^-} + E_{\text{кин.}e^+} = h\nu - 1,022 \text{ МэВ}$$

Энергия падающего кванта преобразуется в энергию покоя частиц $E = E_0 + T_1$, а остаток энергии обращается в энергию. $h\nu = 2m_0c^2 + T_{e^-} + T_{e^+}$

Суммарную кинетическую энергию пары можно условно разделить поровну между электроном и позитроном, но в действительности она зависит от углов разлета этих частиц. Пролетающий через вещество позитрон испытывает взаимодействия с электронами среды, при этом происходит их аннигиляция. В результате образуется γ -квант, способный передать энергию веществу за счет комптоновского и фотоэффекта, а также ядро отдачи, которое обязательно получает свою порцию энергии за счет действия закона сохранения энергии. Вероятность рождения пары электрон-позитрон

увеличивается с ростом энергии кванта и пропорциональна Z^2 . В биологических системах этот эффект выражен слабо, так как средний эффективный атомный номер Z имеет малые значения.



На рисунке: Относительная частота образования электронов и пар фотонами в углероде:

1 – фотоэффект; 2 –комптоновский эффект;

3 – образование пар

Как видно из рисунка, кванты с энергией 10-100 кэВ в биологических тканях поглощаются преимущественно за счет фотоэффекта;

в диапазоне энергий 0,3-10 МэВ основной тип взаимодействия – эффект Комптона, а при энергиях квантов более 10 МэВ начинает преобладать эффект образования пары электрон-позитрон.

Аннигиляция пары приводит к образованию двух γ -квантов с энергией 0,511 МэВ.

Поглощение квантов электромагнитного излучения высокой энергии приводит к возникновению в веществе небольшого числа атомов, утративших электроны. Эта первичная ионизация – следствие фото- и комптоновского эффектов. Высвободившиеся электроны обладают огромным запасом кинетической энергии (к ним перенесена большая часть энергии падающего кванта) и могут многократно взаимодействовать с атомами и молекулами, отдавая энергию на их ионизацию и возбуждение. Так продолжается до тех пор, пока энергия свободного электрона не снизится до того минимального уровня, при котором электрон уже сможет присоединиться к нейтральному атому с образованием отрицательного иона.

Каждый первичный электрон от момента своего рождения до захвата нейтральным атомом или молекулой многократно взаимодействует с атомами, расположенными вдоль направления его движения, генерируя большое число вторичных электронов. Распределение энергии вторичных электронов точно может

быть рассчитано лишь для атома водорода. Для более сложных молекул возможны лишь качественные рассуждения.

Перенос веществу энергии квантов излучения осуществляют главным образом высокоэнергетические вторичные электроны. Первичная ионизация при действии рентгеновского или γ -излучения пренебрежимо мала по сравнению с тем количеством ионизированных и возбужденных атомов, которое возникает в результате взаимодействия вторичных электронов с веществом. Поэтому фотоны рентгеновского и γ -излучения следует относить к косвенно ионизирующим частицам, высвобождающим в веществе непосредственно ионизирующие частицы – высокоэнергетические вторичные электроны.

Механизм поглощения нейтронного излучения

Нейтронное излучение – поток нейтронов, то есть частиц с массой равной 1,0087 а.е.м. и зарядом $q=0$.

Нейтронное излучение в зависимости от энергии частиц делит их на быстрые, медленные и промежуточные нейтроны.

Вследствие электронейтральности нейтроны не взаимодействуют с кулоновскими полями атомов и молекул и могут проходить в веществе значительные расстояния, не отклоняясь от первоначального направления. Нейтрон, не имея заряда, тем не менее вызывает ионизацию атомов и молекул. Происходит это за счет косвенных эффектов, связанных со следующими типами взаимодействия нейтронов с ядром атома.

I. Упругое рассеяние результат соударения нейтрона с ядром атома. Кинетическая энергия нейтрона распределяется между ним и «ядром отдачи» согласно

уравнению: $E = \frac{4 \frac{m_n}{M}}{1 + \frac{m_n}{M}} \cdot E_n \cos^2 \theta$, где m_n и E_n - масса и энергия нейтрона, M и E –

масса и энергия ядра отдачи, θ – угол между направлением движения падающего нейтрона и ядра отдачи. Из уравнения следует, что ядру отдачи передается максимальная энергия, если это ядро имеет минимальную массу M . Значит, в

результате упругого рассеяния наибольшее количество энергии нейтронного излучения поглощает водород ($M = 1$).

II. Неупругое рассеивание нейтронов состоит в том, что часть их энергии идет на сообщение ядру запаса кинетической энергии, а часть - на возбуждение ядра. А возбужденное ядро переходит в основное состояние с испусканием одного или нескольких γ -квантов.

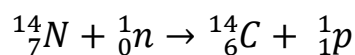
Неупругое рассеяние становится возможным при энергии нейтронов больше нескольких кэВ. В результате этого эффекта помимо непосредственно ионизирующих частиц (ядра элементов) в веществе возникают γ -кванты.

III. При низких значениях скоростей нейтронов возможен радиационный захват нейтрона ядром.

Согласно уравнению Ферми: $\sigma_{(n,\gamma)} \sim \frac{1}{\sqrt{E_n}} \sim \frac{1}{v_n}$, где E_n и v_n – энергия и скорость нейтрона соответственно, σ – эффективное сечение реакции, т. е. величина, количественно характеризующая вероятность взаимодействия нейтронов с ядром.

В результате образуется короткоживущее высоковозбужденное ядро – **компаунд-ядро** и оно переходит в стабильное состояние с испусканием γ -квантов, протонов и α -частиц.

При захвате нейтрона легкими ядрами, например ядром водорода, испускается γ -квант с энергией 2,2 МэВ: ${}_1^1H + {}_0^1n \rightarrow {}_1^2D + \gamma$. Если же нейтрон захватывается промежуточным или тяжелым ядром, то могут испускаться протоны или α -частицы. Так, в случае захвата нейтрона ядром азота образуется изотоп углерода ${}^{14}\text{C}$ и испускается протон с энергией 0,66 МэВ:



Соотношение каждого из перечисленных процессов поглощения нейтронного излучения зависит от энергии частиц. Таким образом, нейтрон можно отнести к разряду косвенно ионизирующих частиц и объединить их по принципу действия в одну группу с фотонами рентгеновского и γ -излучения.

Косвенно ионизирующие частицы – это незаряженные частицы, которые могут высвобождать непосредственно ионизирующие частицы или вызывать ядерные превращения.

Ионизация в тканях косвенно ионизирующими частицами

Нейтронное, рентгеновское и γ -излучение генерируют в веществе ионизации, пространственное распределение которых существенно отличается от такового при действии ускоренных заряженных частиц.

Электронейтральные частицы, обладая высокой проникающей способностью, углубляются в ткани организма на значительные расстояния. Они формируют большинство ионизации косвенным путем: фотоны рентгеновского и γ -излучения – за счет комптоновских и фотоэлектронов, а нейтроны – за счет ядер отдачи. Эти заряженные частицы в основном и осуществляют перенос энергии излучения веществу, вызывая ионизации и возбуждения атомов.

Мягкие рентгеновские лучи (до 100 кэВ) поглощаются в поверхностных слоях ткани за счет фотоэлектронов (фотоэффекта).

Длина пробега фотоэлектронов не превышает 2 мм, поэтому биологический эффект возникает вблизи места поглощения падающего кванта.

Жесткие рентгеновские и γ -лучи (с энергией фотонов выше 300 кэВ) взаимодействуют с тканями посредством эффекта Комптона. При этом максимум выделения энергии лежит на глубине вплоть до нескольких сантиметров.

Так, -лучи ^{60}Co теряют 60% всей энергии при прохождении первых 5-6 см ткани, а фотоны с энергией 35 МэВ, генерируемые в бетатронах, отдают максимум своей энергии на глубине 6-8 см.



Поглощение энергии в воде для рентгеновского и γ -излучения с разной энергией квантов

энергии излучения вглубь ткани.

Электроны, высвобождаемые квантами излучения на поверхности облучаемого объема, образуют максимальное число ионов на глубине ткани в несколько сантиметров, т.е. они осуществляют перенос

На рисунке показан характер ионизации вещества жестким рентгеновским излучением при общей поглощенной дозе 10^4 Гр. Облучение нейтронами высоких энергий (10 - 15 МэВ) приводит к пространственному распределению ионов в поглощающей ткани, которое сходно с картиной ионизации жестким γ -излучением. Отличие состоит в том, что энергия нейтрона переносится не к электронам, а к ядрам отдачи, т. е. к тяжелым ускоренным частицам, несущим положительный заряд. Наибольшее количество энергии переносится протонами отдачи, т. е. ускоренными ядрами водорода.

Так, при облучении тканей такими нейтронами основная часть поглощенной дозы создается протонами и тяжелыми ядрами отдачи с высокой плотностью ионизации. В результате облучения тканей в редко расположенных микрообъемах возникают короткие треки с очень высокой плотностью ионизации. Это служит причиной значительно более высокого, чем для рентгеновского и γ -излучения, значения ОБЭ нейтронов высоких энергий.

Поглощение ускоренных заряженных частиц

Облучение тканей косвенно ионизирующими частицами в конечном счете заканчивается появлением заряженных частиц: фотоны рентгеновского и γ -излучения высвобождают в тканях высокоэнергетические электроны; нейтроны вызывают появление в тканях протонов отдачи, α -частиц и ядер других элементов. Все эти заряженные частицы обладают значительной энергией и способны многократно вызывать ионизацию и возбуждение атомов и молекул.

При возмущении атомов существует вероятность либо перехода их в возбужденное состояние, либо их ионизации.

Следствия, к которым приведет наложение на атом дополнительного поля заряженной частицы:

1. Действие поля ускоренной частицы вызывает временное возмущение каждого атома, вблизи которого частица проходит.
2. Это возмущение существует тем больше, чем медленнее движется частица.
3. Частицы, несущие не единичный заряд, вносят большее возмущение, чем однозарядные.

4. Величина массы движущихся частиц не влияет на количество перенесённой энергии, т. е. при равных скоростях электроны и протоны переносят веществу одинаковое количество энергии, хотя массы их различаются почти в две тысячи раз.

Вероятность взаимодействия отдельной частицы с веществом характеризуется эффективным сечением взаимодействия. Обычно его пересчитывают на более удобные для практического применения величины. Количественно дифференциальная потеря энергии заряженной частицы, т. е. потери энергии на единицу длины трека (в единицах МэВ/см), определяются из уравнения Бете-Блоха:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 z^2 N Z}{mv^2} \left[\ln \frac{2mv^2}{I_0} - \ln(1 - \beta^2) - \beta^2 \right],$$

где $e = 1,602 \cdot 10^{-19}$ Кл - заряд электрона; v - скорость частицы в см/с; z - заряд частицы в единицах элементарного заряда e ; N - число атомов в 1 см^3 вещества; Z - среднее число электронов в атоме, т. е. «эффективный» атомный номер; I_0 - средний потенциал ионизации или возбуждения атома, определяемый экспериментально;

$\beta = \frac{v}{c}$ (отношение скорости заряженной частицы к скорости света); для того, чтобы получить потери энергии в единицах МэВ/см, массу электрона принимают равной $m = 0,511 \text{ МэВ}/c^2$.

Действительно, член $e^4 z^2$ соответствует взаимодействию между полем заряженной частицы и электроном (это становится яснее, если записать его в виде $(e^2 z)^2$, т. е. в виде квадрата произведения квадрата заряда летящей частицы на заряд электрона в атоме).

Анализируя это уравнение, можно количественно обосновать проведенные выше качественные представления. Чем выше заряд, тем (больше) сильнее взаимодействие. Зависимость от скорости определяется в основном первым множителем, в который входит $\frac{1}{v^2}$, так как во втором множителе скорость частицы входит в медленно изменяющуюся функцию, содержащую энергию $\frac{mv^2}{v^2}$ под знаком логарифма. В формуле фигурирует только масса электрона как масса возбуждаемой в атоме частицы.

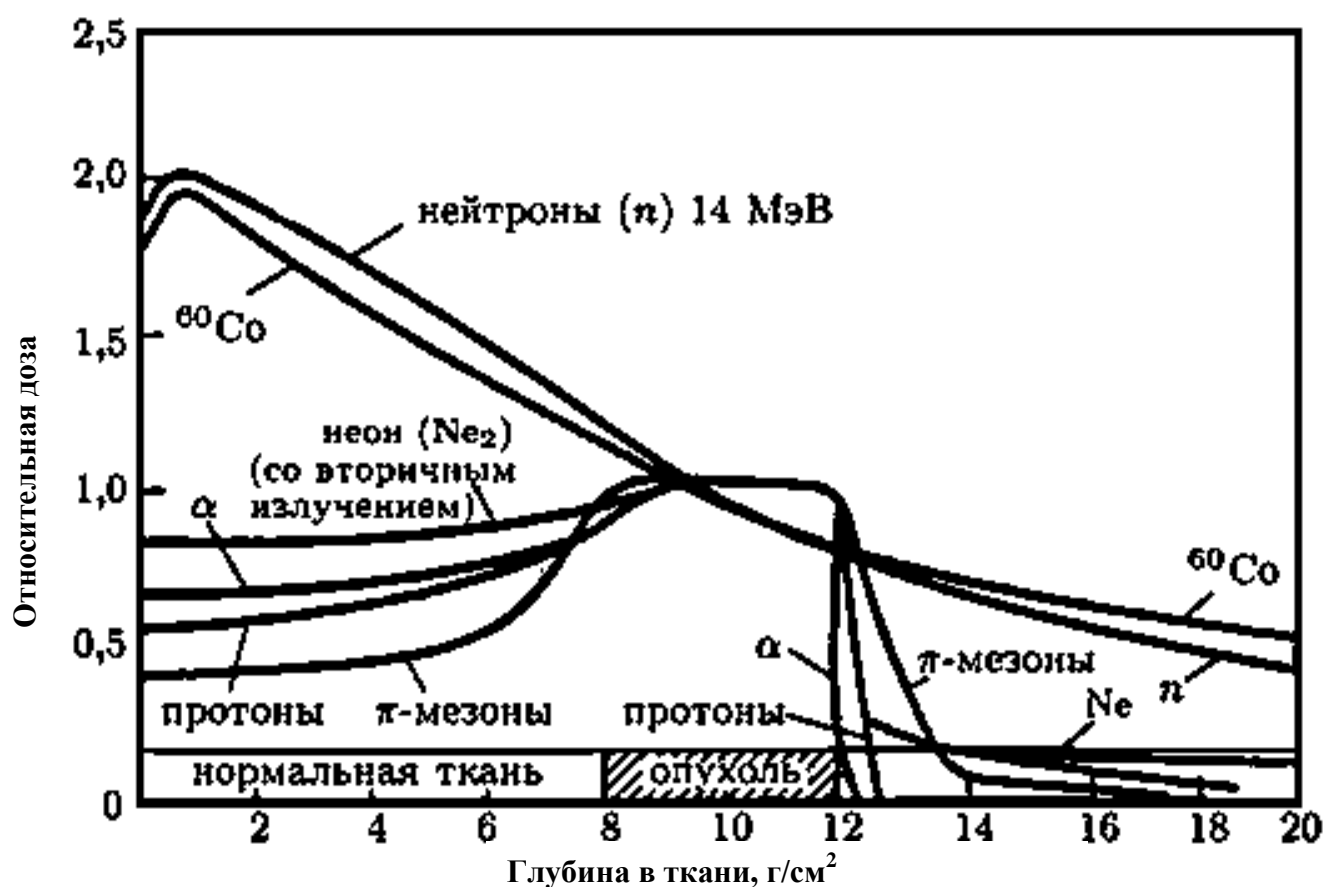
Потеря энергии пропорциональна NZ , т. е. зависит от числа атомов в единице объема и от числа электронов в атоме. По мере торможения частиц их энергетический спектр размывается. Тем не менее наблюдается максимум, который известен как пик Брегга: резкое возрастание потерь энергии в конце пути заряженной частицы.



На рисунке показано резкое возрастание удельных потерь энергии $\frac{dE}{dx}$ в конце пути заряженных частиц (пик Брегга).

Подбирая соответствующий тип излучения и варьируя энергию ионизирующих частиц, можно добиться оптимального распределения поглощенной дозы, в частности, благоприятного соотношения между степенью поражения нормальных тканей и опухолей, залегающих на значительной глубине.

При лечении опухолей используются специальные фильтры, чтобы пик Брегга лечить на нужной глубине.



На рисунке показано пространственное распределение поглощенной дозы для разных видов излучения.

Существование пика Брэгга позволяет с максимальной эффективностью проводить лучевую терапию злокачественных опухолей.

В зависимости от локализации опухолей выбирают вид излучения и его энергетическую характеристику такими, чтобы пик Брэгга приходился на топографически обозначенный очаг злокачественных клеток.

Зависимость биологического эффекта от поглощенной дозы излучения.

Кривые доза-эффект

Первые количественные эксперименты были проведены в конце 20-х гг. XX века. Этому способствовало:

Во-первых, широкое распространение получают ионизационный метод дозиметрии излучения и использование в качестве единицы экспозиционной дозы рентгена. Благодаря этому облучение экспериментальных объектов становится строго дозированным, и условия опыта могут быть многократно воспроизведены.

Во-вторых, для количественных экспериментов радиобиологи стали использовать клоны генетически однородных клеток, вирусные частицы, препараты макромолекул, т. е. такие системы, в которых легко определить реакцию единичного объекта на действие излучения в данной дозе.

Уже в первых радиобиологических исследованиях отмечалась важнейшая закономерность –вероятностная природа проявления реакции клеток на облучение. При оценке зависимости доли погибших клеток от величины дозы облучения выяснялось, что различные одноклеточные объекты гибнут при самых малых дозах облучения, с ростом дозы увеличивается число погибших клеток, однако даже при облучении в очень высоких дозах некоторое число клеток сохраняет жизнеспособность.

Существенно, что с ростом дозы облучения наблюдалось увеличение не столько степени проявления эффекта (глубины поражения отдельной клетки), сколько доли летально пораженных клеток в облученной популяции.

Кривые доза-эффект – зависимость доли выживших клеток от величины дозы облучения.

Для построения кривых определенное количество объектов данного вида облучали в широком диапазоне волн и после облучения определяли дозу той доли объектов.

Из этих кривых было видно, что при самых малых дозах облучения часть клеток гибнет.

В настоящее время установлено, что при облучении в малых дозах наблюдается более сложная немонотонная зависимость дозы-эффект.

При больших дозах некоторая часть клеток сохраняет свою жизнеспособность. Обычно такие кривые носят экспотенциальный характер.

Для объяснения вида кривых использовались представления о том, что реакция клеток на облучение носит вероятностный характер, а также об особенностях воздействия ионизирующих излучений на организм, а именно **о дискретной природе передачи энергии ионизирующего излучения атомом-поглотителем.**

Объяснение наблюдаемого вида кривых зависимости эффекта от дозы облучения все же следует искать в особенностях воздействия ионизирующих излучений, в способе сообщения ими энергии биологическому объекту, т. е. в иной, биофизической трактовке экспериментальных кривых «доза-эффект».

Гипотеза точечного нагрева

В начале 20-х гг. Дессауэр выдвинул *гипотезу точечного нагрева*, которая основывалась на следующих положениях:

- ионизирующие излучения обладают очень малой объемной плотностью по сравнению с видимым или ультрафиолетовым светом энергетически эквивалентной дозы;
- фотоны рентгеновского или γ -излучения, ускоренные электроны или тяжелые заряженные частицы обладают огромной энергией, величина которой значительно превосходит энергию любой химической связи;
- облучаемый биологический объект, например клетка, состоит, с одной стороны, из относительно менее значимых и, с другой – весьма существенных для жизни микрообъемов и структур;

- в облучаемом объекте при поглощении относительно небольшой общей энергии в отдельных случайных и редко расположенных микрообъемах остаются настолько большие порции энергии, что их можно сравнить с микролокальным нагреванием и они могут производить почти любые узколокальные изменения в веществе;

- так как распределение «точечного тепла» является чисто статистическим, то конечный эффект в клетке будет зависеть от случайных попаданий дискретных порций энергии в жизненно существенные микрообъемы внутри клетки. С повышением дозы увеличивается вероятность таких попаданий, и наоборот, при понижении дозы вероятность снижается. Из этого следует, что любая самая малая доза может соответственно с малой вероятностью и, следовательно, малой частотой вызывать экстремальный биологический эффект (например, гибель клетки), но даже при очень высокой дозе могут с малой вероятностью и малой частотой сохраниться отдельные неповрежденные клетки.

В 1922г. Блау и Альтенбургер предложили *общую формулу для расчета кривых дозы-эффект, основанную на принципе «попадания»*

$$\frac{N}{N_0} = 1 - e^{-\nu D} \sum_{k=0}^{k=n-1} \frac{(\nu D)^k}{k!}$$

где N_0 – исходное число клеток до облучения, N – число клеток, прореагировавших данным образом, D – доза облучения, n –требуемое число попаданий в мишень и ν – коэффициент, пропорциональный объему V «мишени», попадание в которую приводит к оцениваемому эффекту (точный смысл коэффициента ν будет определен при рассмотрении статистики одноударных процессов).

Блау и Альтенбургер рассчитали теоретически кривые доза-эффект для разного числа попадания в мишень, эти кривые соответствовали реальным кривым, наблюдаемым при облучении изолированных клеток.

Принцип попадания и его основные физические принципы. Концепция мишени

Принцип попадания и теория мишени были предложены рядом ученых: Кроутер, Ли, Тимофеев-Рессовский.

В 1924 г. Кроутер первым сформировал принцип попадания. Он предположил, что регистрируемый эффект связан с некоторым критическим числом ионизации (попаданий) в пределах мишени, занимающей определенный чувствительный объем внутри клетки. Параметры мишени оказались сопоставимыми с размерами центриолей и ядрышек.

С тех пор в радиобиологии начался активный поиск мишени на основании статистических принципов попадания. Он привел к выводу о ведущей роли ядра и внутриядерных наследственных структур в летальном поражении клетки.

Одиночные и множественные попадания в мишень

Количественный анализ, основанный на принципе попадания, состоит в том, что кривые «доза-эффект» интерпретируются на основе следующих физических положений:

- Ионизирующее излучение переносит энергию в дискретном виде;
- Акты взаимодействия (попадания) не зависят друг от друга и подчиняются пуассоновскому распределению;
- Исследуемый эффект наступает, если число попаданий в некоторую чувствительную область гетерогенной биологической структуры, так называемую мишень, составляет по крайней мере $n \geq 1$.

Рассмотрим простейший случай **«одноударного процесса»**, когда попаданием считают одиночную передачу некоторого минимального количества энергии. Тестируемый эффект наступает лишь тогда, когда определенное минимальное количество энергии поглощено чувствительной областью – мишенью.

Пусть облучаемая система состоит из N_0 объектов, каждый из которых обладает мишенью сечением S и объемом V . Пусть для инактивации объекта достаточно, чтобы трек плотно ионизирующей частицы прошел через сечение мишени S ; такое событие будем именовать попаданием.

Если траектории частиц распределяются по поперечному сечению объекта случайным образом и не зависят друг от друга, то вероятность **одного, двух, ..., n**

попаданий в мишень, находящуюся в пределах объекта, описывается уравнением:

$P(n) = \frac{\alpha^n e^{-\alpha}}{n!}$, где α - среднее число попаданий в мишень. Если Φ – флюенс, то есть среднее число частиц, пролетающих через единичную площадку, а S – сечение мишени, то $\alpha = S\Phi$. Как было определено формулой $D = 1,602 \cdot 10^{-10} \cdot L\Phi$, где Φ (отношение dN/dS) флюенс пропорционален поглощенной дозе излучения.

С увеличением потока частиц (т.е. с ростом дозы излучения) в объекте возрастает число мишеней, в которые произошло попадание.

Если N_0 - общее число объектов в облучаемой системе, N - общее число объектов, сохранивших после облучения исходные свойства, то величина $\frac{N}{N_0}$ соответствует вероятности непопадания ($n=0$). Из предыдущего уравнения для случая $n=0$ (учитывая, что $0! = 1$) получим $\frac{N}{N_0} = \frac{(S\Phi)^0 e^{-S\Phi}}{0!} = e^{-S\Phi}$

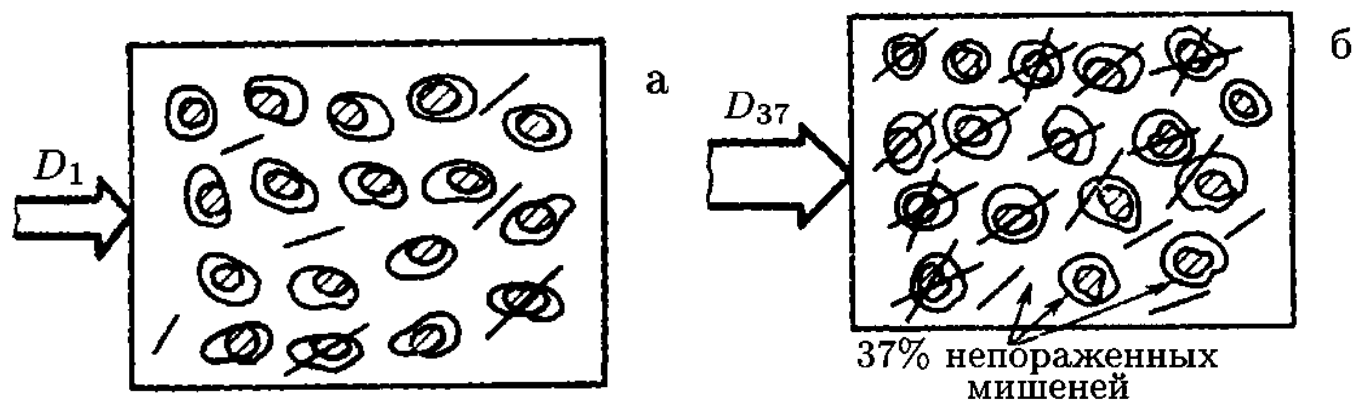
При некоторой дозе облучения выполняется условие $S\Phi = 1$. Это соответствует случаю, когда в среднем число попаданий равно числу мишеней. В действительности же часть попаданий испытали уже однажды пораженные мишени, а некоторые не претерпели ни одного попадания.

Согласно формальной статистике Пуассона при $S\Phi = 1$ реально поражается только 63% мишеней, а 37% оказываются непораженными (Здесь не учитываются процессы восстановления в облученных клетках). Действительно, подставив в уравнение $\frac{N}{N_0} = \frac{(S\Phi)^0 e^{-S\Phi}}{0!} = e^{-S\Phi}$ значение $S\Phi = 1$, получим $\frac{N}{N_0} = e^{-S\Phi} = e^{-1} = 0,37$

Из соотношения $\frac{N}{N_0} = \frac{(S\Phi)^0 e^{-S\Phi}}{0!} = e^{-S\Phi}$ определяется и доза облучения, при которой выживает 37% объектов, т. е. $N/N_0 = 0,37$, если воспользоваться формулой для пересчета флюенса в дозу: $D = 1,602 \cdot 10^{-10} \cdot L\Phi$, где L – средняя ЛПЭ в единицах $\text{МэВ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{см}^2$, Φ – флюенс частиц, то есть отношение dN/dS , если dN – количество частиц, падающих на площадку $dS \text{ см}^2$. Множитель $1,602 \cdot 10^{-10}$ численно равен заряду электрона.

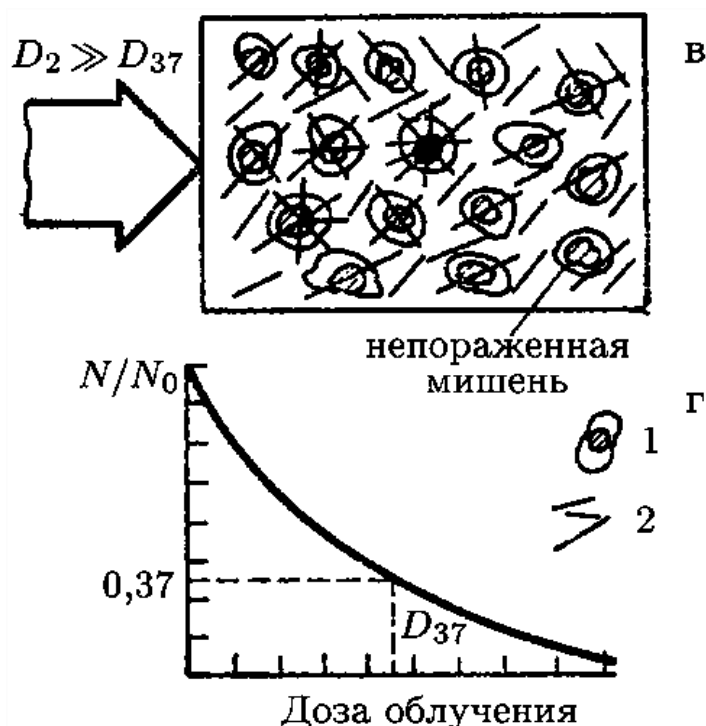
Отношение N/N_0 легко определить в эксперименте: это доля «выживших» объектов по отношению к их общему числу до облучения. Узнав, при какой дозе облучения выживает 37% объектов, т.е. $N/N_0 = 0,37$ (эту дозу излучения обозначают символом D_{37}), мы можем определить сечение мишени, принимая, что дозе D_{37} соответствует флюенс Φ_{37} который определяется формулой $D = 1,602 \cdot 10^{-10} \cdot L\Phi$:

$$S\Phi_{37} = 1, S = 1/\Phi_{37}.$$



На рис. а-б представлена схема, иллюстрирующая зависимость числа пораженных мишеней от дозы облучения. Из рис. А видно, что даже при облучении в малой дозе некоторое число частиц проходит через мишени и вызывает их инактивацию. С ростом дозы число пораженных объектов возрастает резко, почти линейно, а затем все более вероятно повторное прохождение частиц через уже пораженные мишени. При дозе D_{37}

общее число частиц соответствует числу мишеней ($SD = 1$), но 37% объектов остаются непораженными, тогда как некоторые из 63% мишеней испытали по два и более попаданий (рис. б).



1 — объект с мишенью сечением S ; 2 — треки частиц.

Даже при очень большой дозе облучения все же какое-то число объектов оказалось не пораженным излучением (рис. в).

Графически зависимость доли выживших клеток от величины дозы выражается экспонентой (рис. г)

$$\frac{N}{N_0} = e^{-S\Phi} = e^{-\frac{D}{D_{37}}}$$

Экспоненциальная зависимость доз-эффекта это важный, но не единственный критерий одноударности процессов инактивации. Если в действительности одного попадания в мишень достаточно для инактивации объекта, то должны выполняться следующие требования:

1) эффект, вызываемый облучением в данной дозе, не зависит интенсивности излучения (мощности дозы) и от того, какими частями доза сообщалась объекту;

2) при одинаковом эффекте вызывающая его доза в различных излучениях возрастает при переходе от редко- к плотноионизирующим частицам.

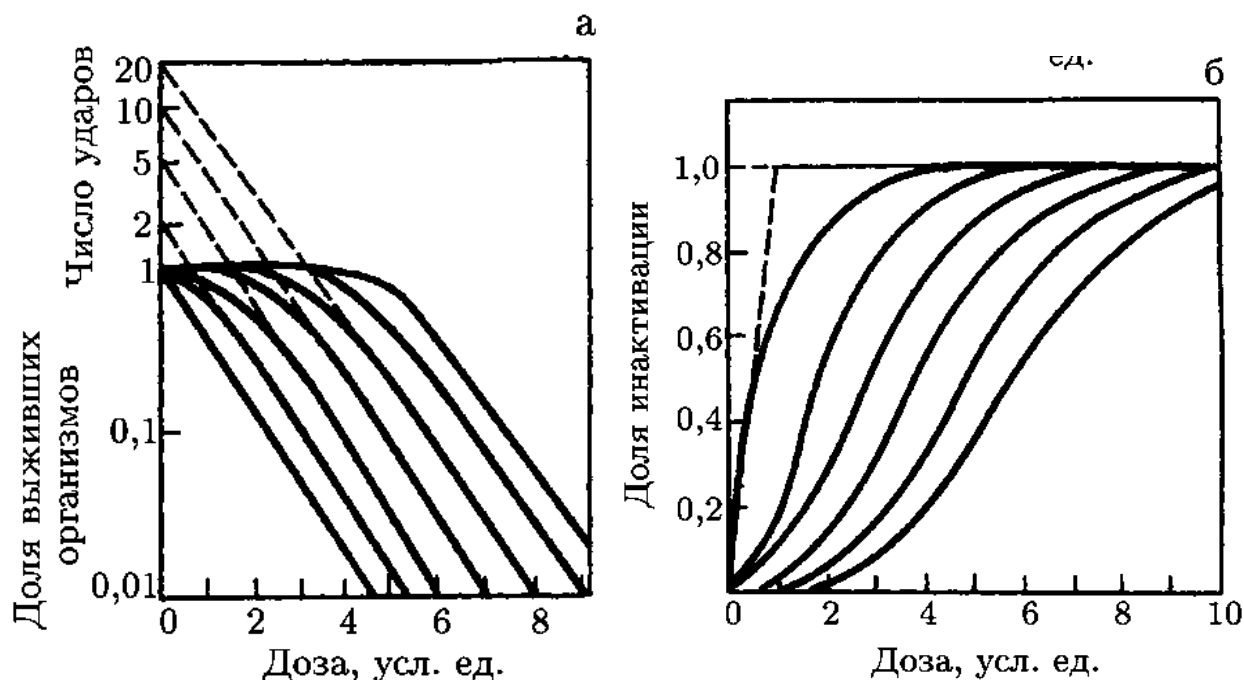
Если выполняется первое требование, значит тестируемый эффект не возникает в следствии кумулятивного действия нескольких последовательных ионизации (иначе эффект зависел бы от распределения ионизации во времени).

Каждая ионизация, возникающая в пределах облучаемых объектов, имеет определенную вероятность оказаться причиной эффекта, но эта вероятность при одноударном процессе не должна зависеть ни от времени, прошедшего с момента предыдущей ионизации, ни от времени, отделяющего ее от последующей ионизации.

Следовательно, эффект данной дозы должен определяться только ее величиной (т.е. числом возникших актов ионизации); интенсивность излучения и распределение дозы во времени не должны играть никакой роли.

Выполнение второго требования означает, что плотноионизирующие излучения менее эффективны, чем редкоионизирующие. Действительно, если одиночной ионизации достаточно для возникновения тестируемого эффекта, то частицы, производящие большое число ионов на единицу пути, вызовут в пределах мишени множество «ненужных» ионизации. Редкоионизирующие излучения генерируют сгустки ионов, значительно удаленные друг от друга, и вероятность возникновения нескольких ионизации в пределах мишени малого размера незначительна. То при одноударном процессе большинство попаданий вызываемых плотноионизирующим излучением бесполезны. Величина поглощенной дозы определяет общее число ионизации, произведенных данным видом излучения в единице объема. При одноударном процессе большинство ионизации, вызванных плотноионизирующим излучением, «бесполезно». Поэтому при равной дозе, т. е. при равном общем числе ионизации, редкоионизирующие излучения окажутся более эффективными.

Напротив, если тестируемый эффект наступает вследствие большого числа ионизации в пределах мишени (многоударный механизм инактивации), то частицы с высокой плотностью ионизации окажутся значительно эффективнее, чем редкоионизирующие.



Кривые «доза-эффект» при многоударном механизме инактивации отличаются от экспоненциальных дозовых кривых, наблюдаемых в случае одноударного процесса. В полулогарифмическом масштабе семейство дозовых кривых для случая $n = 2, 3, \dots, k$ представлено на рисунке **а** в полулогарифмическом масштабе (обозначена «Ударность» процесса инактивации); на рисунке **б** в обычном масштабе.

Чем больше «ударность» мишени, тем заметнее «плечо» - начальный, более горизонтальный участок кривой. Вслед за плечом следует переход к прямолинейному участку, наклон которого совпадает с наклоном соответствующей одноударной кривой.

Вид дозовой кривой при многоударном механизме инактивации определяется тем, что при малых дозах лишь небольшое число объектов может испытать требуемое число попаданий k , а все остальные – не более $k-1$ попаданий. По достижении $k-1$ попаданий во все или большинство объектов возникает ситуация, при которой последнее, k -е, попадание приводит к тестируемому эффекту. Начиная с этой дозы кривая принимает вид, характерный для одноударного процесса.

На основании принципа попадания и концепции мишени можно анализировать кривые «доза-эффект», полученные в эксперименте. В зависимости от вида объекта и характера излучения получают различные дозовые кривые – от простых экспоненциальных до сигмоидальных с различной шириной плеча. Подобное применение принципа попадания позволило впервые определить размеры некоторых макромолекул, вирусов, генов, получить сведения о внутренней структуре бактериальных спор и т. д.

Прямое и косвенное действие ионизирующего излучения. Этапы биофизического анализа радиационной инактивации молекул

В результате облучения макромолекул их биологические функции могут полностью или частично утрачиваться. В этом случае говорят об инактивации макромолекул ионизирующей радиацией. Инактивация макромолекулы может произойти в результате прямого либо опосредованного действия ионизирующего излучения.

Прямое действие состоит в том, что инаktivированными оказываются те молекулы, которые непосредственно поглотили энергию излучения.

Если же молекула была поражена активными реакционноспособными продуктами, возникшими за счет поглощения энергии излучения ее микроокружением (например, полярными или неполярными растворителями), то говорят о **непрямом** (опосредованном, косвенном) действии радиации.

Биофизический анализ механизмов лучевой радиационной инактивации макромолекул состоит в описании в терминах физики и химии всей последовательности процессов, которые начинаются с поглощения молекулой дискретной порции энергии излучения и заканчиваются очевидными, доступными экспериментальному анализу изменениями ее биологических свойств. Такой анализ включает следующие *три логически связанных этапа*.

Первый этап – это феноменологический анализ картины лучевого поражения молекул. Он осуществляется путем построения кривых «доза-эффект» и изучения на их основе радиочувствительности отдельных биологических функций макромолекул.

В толковании понятия «биологические функции макромолекул» существует известная неопределенность, связанная с тем, что в настоящее время мы не в состоянии очертить весь круг функциональных признаков, определяющих уникальную роль данного типа молекул в жизнедеятельности клеток и организмов. Еще труднее охарактеризовать эти признаки количественно.

Однако для некоторых биомолекул уже сейчас можно указать на ряд свойств, определяющих их значение в процессах обмена веществ, в хранении и передаче наследственных свойств, в возникновении естественной изменчивости. Анализируя влияние облучения на ферменты, мы прежде всего должны оценить изменения их каталитической активности, субстратной специфичности, чувствительности к соответствующим активаторам и ингибиторам, возможность воздействия на их стерическое регулирование. Если по любому из этих функциональных признаков отмечается негативный эффект облучения, то мы будем называть такое событие лучевой инактивацией фермента. Соответствующими биохимическими методами можно оценить степень инактивации количественно.

В экспериментах по облучению нуклеиновых кислот критерием инактивации ДНК может служить изменение ее инфекционности, трансформирующей активности (для бактериальных и вирусных ДНК), способности служить матрицей для синтеза соответствующих комплементарных полинуклеотидных последовательностей. Влияние излучения на молекулы тРНК оценивают по их способности связывать специфические аминокислоты. В подобных опытах удастся количественно оценить инактивирующее действие излучения на этот тип нуклеиновых кислот.

На **втором этапе** биофизического анализа механизмов радиационной инактивации макромолекул последовательно оценивают стадии прямого эффекта ионизирующей радиации (условно они делятся на первичную физическую, физико-химическую и химическую-деструктивную).

На **третьем этапе** биофизического анализа устанавливаются причинно-следственные связи между типами структурного повреждения и характером инактивации макромолекулы. Для решения этих вопросов перспективно использование модифицирующих агентов, видоизменяющих типы структурного повреждения и (или) характер инактивации. Сочетание различных модифицирующих

агентов позволяет дифференциально оценить роль тех или иных типов повреждений в инактивации макромолекулы.

Детальное описание всех этапов радиационной инактивации макромолекул составляет одну из важнейших задач современной радиационной биофизики. Эта проблема еще далека от полного разрешения.

Однако уже сегодня можно говорить о важнейших деталях и указать основные направления, по которым развиваются исследования.

Феноменологический анализ картины лучевого поражения макромолекул.

Прямое действие излучения на ферменты: эксперимент. зависимости, сравнение радиочувствительности функций ферментов. Доза Д37

Феноменологический анализ картины лучевого поражения макромолекул

Прямое действие ионизирующей радиации на макромолекулы обычно исследуют на обезвоженных или кристаллических препаратах ферментов и нуклеиновых кислот. В этом случае большинство молекул инактивируется в результате прямого поглощения энергии излучения (Следует все же оговориться, что даже при облучении высокоочищенных препаратов в глубоком вакууме наличие одного только прямого действия маловероятно: активные продукты, возникающие при поражении одних молекул, могут индуцировать структурные изменения в молекулах ближайшего окружения.)

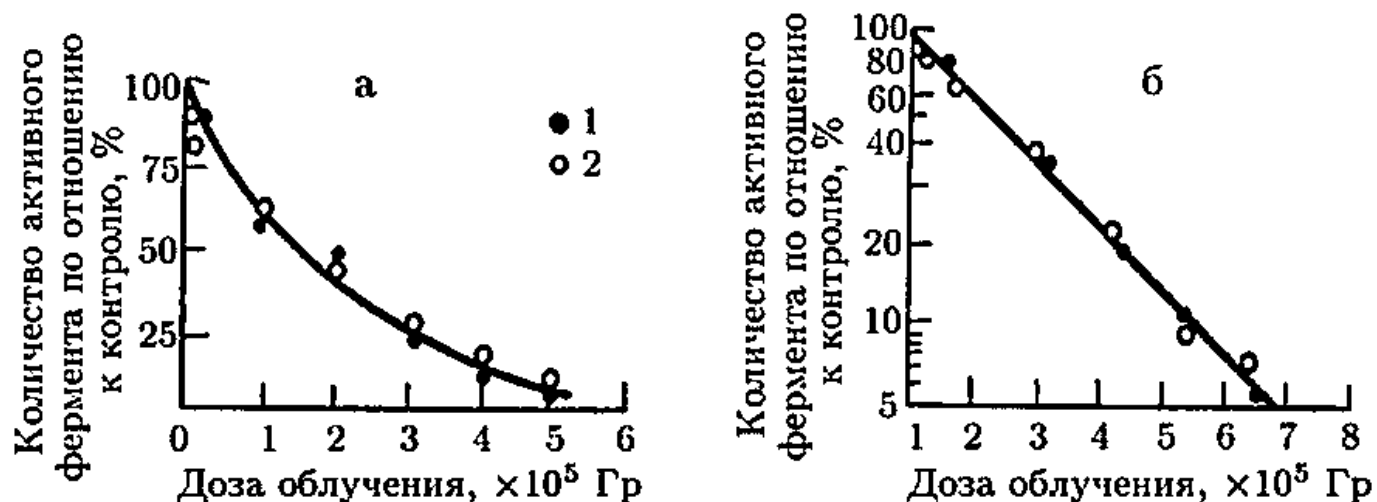
Прямое действие излучения на ферменты

Схема эксперимента по определению числа инактивированных молекул фермента при действии излучения в данной дозе состоит в том, что ампулу с гомогенным препаратом (сухим или кристаллическим) подвергают облучению, а затем сопоставляют активность опытного и контрольного образцов. Путем соответствующего пересчета можно перейти от доли инактивированных молекул (или процента инактивации) к истинному числу молекул фермента, инактивированных излучением в данной дозе. Используя соответствующие биохимические методы, можно оценить изменение различных функциональных свойств облученного фермента

– каталитической активности, субстратной специфичности, стерического регулирования и т. д.

На рис. а, б представлены результаты одного из экспериментов Юнга и Дертингера с кристаллической рибонуклеазой. В широком диапазоне доз излучения оценивается каталитическая активность и субстратная специфичность облученного фермента.

Так как деградация РНК под действием рибонуклеазы осуществляется в два этапа (вначале расщепляется фосфодиэфирная связь в РНК и образуется циклический диэфир, а на второй стадии фосфатная связь гидролизуеться до нуклеотид-3-фосфата), то, используя РНК в качестве субстрата, можно исследовать суммарную реакцию, а с помощью цитидин-2', 3-циклофосфата – только вторую ее стадию.



Инактивация РНКазы γ -излучением. Ферментная активность определялась для двух различных субстратов: 1 – РНК; 2 – цитидин-2', 3'-циклофосфата;

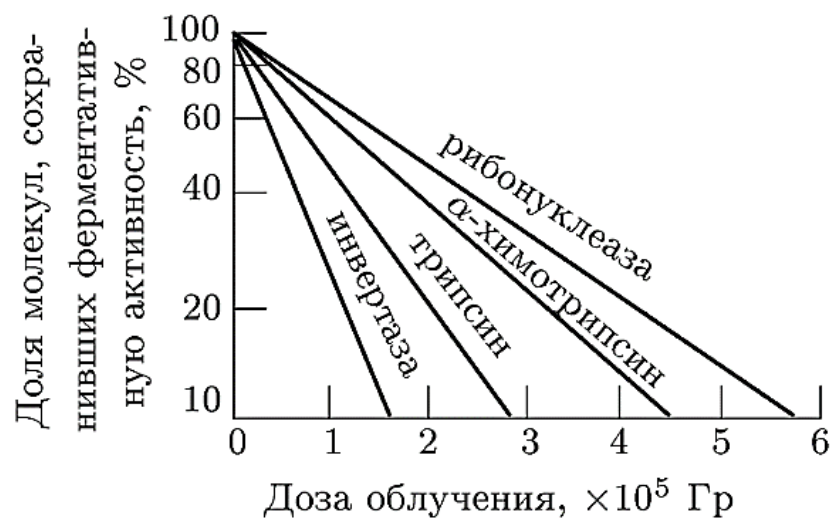
а) зависимость «доза-эффект» выражена в линейных координатах;

б) эти же данные представлены в полулогарифмическом виде,

экспериментальные точки укладываются на прямую

Одинаковую радиационную инактивацию РНКазы наблюдали при использовании обоих субстратов (рис.), т.е. при облучении в равной мере поражаются обе функциональные единицы фермента.

Зависимость эффекта от дозы облучения экспоненциальна.



Радиочувствительность ряда ферментов, подвергнутых воздействию γ -излучения в вакууме

При самых малых дозах обнаруживаются молекулы фермента, утратившие способность расщеплять субстраты обоих типов; с ростом поглощенной дозы число таких молекул возрастает вначале резко, почти линейно, а затем мы видим, как значительному приращению дозы соответствует лишь небольшое увеличение доли инактивированных молекул.

Для проверки экспоненциального характера зависимости «доза-эффект» необходимо преобразовать кривую **а**, построив ее в полулогарифмических координатах, как это сделано на рис. **б** (по оси ординат откладывается не доля молекул, сохранивших исходную активность, а натуральный логарифм этой величины). Все экспериментальные точки укладываются на прямую, проходящую под углом к оси ординат, следовательно, $\ln \frac{N}{N_0} = -kD$ или $N/N_0 = e^{-kD}$.

Экспоненциальная зависимость «доза-эффект» обнаружена в экспериментах по лучевой инактивации различных ферментов и может рассматриваться как общая закономерность прямого действия радиации на ферменты.

Сравнивая кривые «доза-эффект», можно сопоставить радиочувствительность различных ферментов. Из рисунка видно, что для получения сравнимой инактивации изученных ферментов требуется существенно различающиеся дозы. Обычно в качестве критерия радиочувствительности выбирают такую дозу излучения, которая необходима, для инактивации 63% молекул в облученном препарате фермента. Так как при этом 37% молекул сохраняют нативные свойства, эта доза получила название

«доза 37%-ой сохранности», или доза D_{37} . По рисунку можно установить, что для инвертазы D_{37} в данных условиях составляет около 80 кГр, а для рибонуклеазы – 280 кГр, т.е. при одинаковой дозе молекулы первого фермента поражаются со значительно большей вероятностью. Это может быть связано с различными размерами макромолекулы, особенностями ее аминокислотного состава, характером миграции энергии в полимере или другими причинами, которые должны быть установлены в ходе биофизического анализа.

Известно, что функциональные свойства фермента определяются его различными структурными участками. Так как поглощение энергии излучения может приводить к различным типам структурного повреждения, следует ожидать, что не все функции фермента подавляются радиацией в равной степени. В таблице сведены результаты исследований различных авторов, которые подтверждают такую возможность.

Радиочувствительность функций, определяющих биологическую активность ферментов

Фермент	Радиочувствительность функций, связанных с ферментной активностью (по величине дозы D_{37})
химотрипсин	эстераза > протеаза > связывание диизопропил-фосфата > уменьшение максимальной скорости > > увеличение константы Михаэлиса–Ментен *)
трипсин	протеаза > эстераза
глутамат-дегидрогеназа	уменьшение максимальной скорости и увеличение константы Михаэлиса–Ментен > поражение активного центра и способности связывать кофермент
рибонуклеаза	уменьшение максимальной скорости; константа Михаэлиса–Ментен без изменения
аспартаткарбамоилтрансфераза	поражение активного центра > инаktivация участка ингибирования по принципу обратной связи (аллостерические свойства)

*) Более высокая радиочувствительность (т.е. меньшие дозы D_{37}) обозначена символом >. Например, эстераза > протеаза означает, что эстеразная активность фермента более радиочувствительна, чем протеазная.

В опытах с рибонуклеазой обнаружено, что облучение приводит к снижению максимальной скорости реакции, а величина константы Михаэлиса–Ментен остается

без изменения. Это означает, что число каталитически активных молекул в облученном препарате понижается, однако пораженные молекулы сохраняют сродство к субстрату. Вероятно, возникающие поражения структуры затрагивают активный центр, но не препятствуют взаимодействию фермента со специфическим субстратом. В случае с трипсином протеазная активность поражается в большей мере, чем эстеразная, т.е. в результате облучения возникают повреждения главным образом в тех структурных звеньях, которые определяют протеазную активность фермента.

Если ионизирующие излучения в состоянии вызывать специфические структурные повреждения в молекуле фермента и приводить к определенному изменению его функциональных характеристик, то с помощью радиационного воздействия можно исследовать причинную связь между структурой и функцией фермента.

Рассмотрение феноменологии лучевого поражения ферментов позволяет заключить, что в результате прямого действия излучения возникают различные нарушения функциональных свойств фермента; наблюдается экспоненциальная зависимость биологического эффекта от величины поглощенной дозы, т.е. с увеличением поглощенной дозы излучения доля макромолекул, сохранивших нативные свойства, убывает по закону e^{-kD} , где **k** – константа, **D** – поглощенная доза. Облученный фермент может утрачивать одни функциональные свойства при сохранении других, т.е. наблюдается неодинаковая радиочувствительность различных биологических свойств фермента; по одному и тому же критерию, например каталитической активности, различные ферменты обладают неодинаковой радиочувствительностью.

Прямое действие излучения на нуклеиновые кислоты. Важнейшие характеристики

Существуют определенные трудности количественного измерения инактивации нуклеиновых кислот. Существует ряд модельных систем позволяющих количественно оценить важнейшие из функциональных характеристик этих макромолекул.

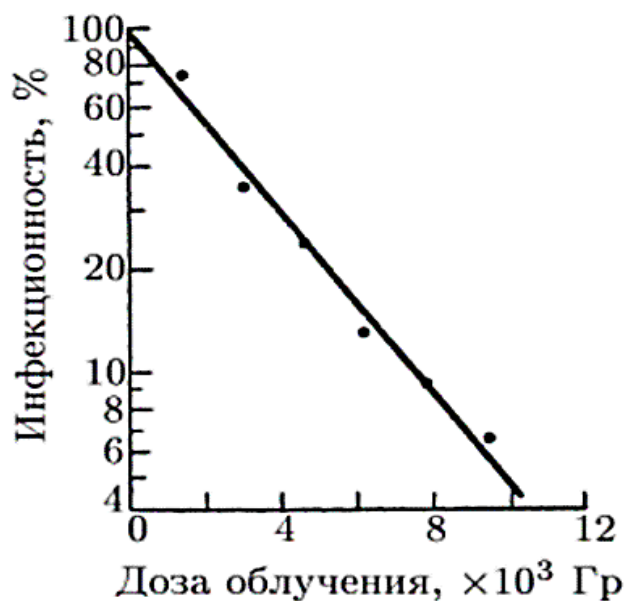
- *Инфекционность нуклеиновых кислот*
- *трансформирующая активность*

- *затравочная активность мДНК*
- *способность ДНК к образованию гибридов мРНК*
- *способность т-РНК связывать соответствие аминокислоты.*
- *функциональная активность рибосом*

Их и основные феноменологические данные, полученные при изучении характера инактивации облученных нуклеиновых кислот, мы рассмотрим подробно.

Инфекционность нуклеиновых кислот

Термином «**инфекционность**» обозначают способность вирусной ДНК или РНК индуцировать образование бактериальной клеткой новых полноценных фагов. Методически эксперимент выглядит так. Бактерии обрабатывают лизоцимом, в результате чего они теряют часть клеточной стенки и образуют сферопласты, которые можно инфицировать нуклеиновой кислотой, выделенной из бактериофага.



Инфекционность
ДНК фага $\phi X174$, препарат ко-
торого подвергнут воздействию
 γ -излучения ^{60}Co в вакууме

Если в инфицированной бактерии возникают новые полноценные фаги, то бактериальная стенка ее разрывается, и из бактерии высвобождается 100-200 бактериофагов. Количество вирусных частиц, высвободившихся из лизированных сферопластов, в определенных пределах пропорционально количеству молекул ДНК или РНК, сохранивших инфекционные свойства. Так как фаги лизируют новые сферопласты вблизи места своего высвобождения, то на сплошном газоне бактериальных клеток,

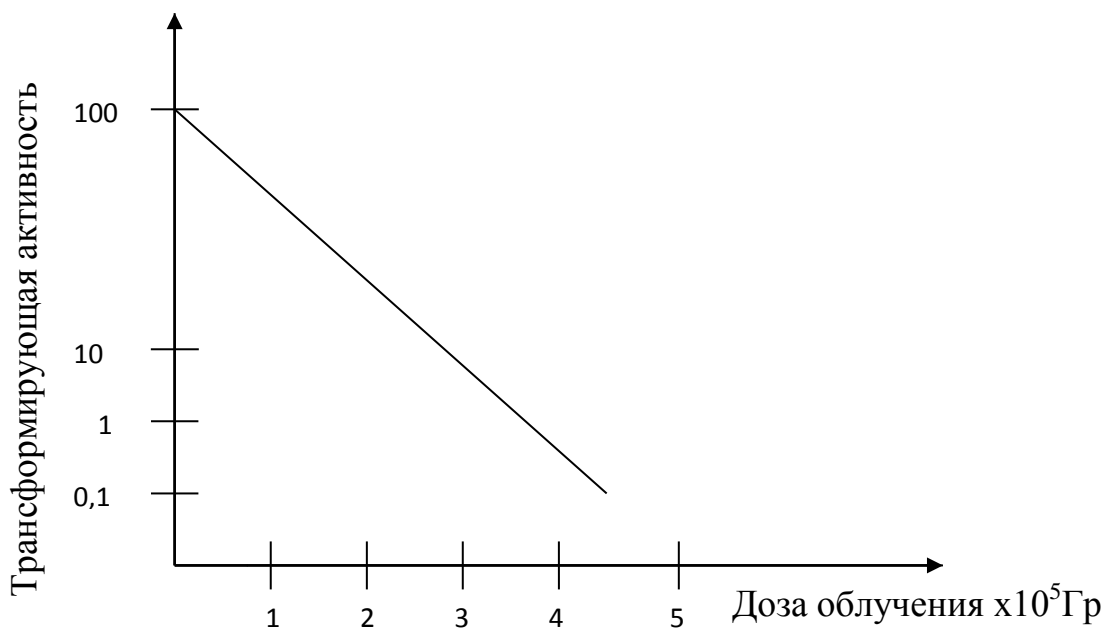
выращенных на агаре, образуется пятно лизиса – «бляшка». Количество бляшек можно подсчитать визуально, и их число служит количественным критерием инфекционности вирусной нуклеиновой кислоты.

Этим методом определяют инактивацию вирусной ДНК в результате облучения. Результаты одного из таких экспериментов приведены на рисунке. Доля молекул ДНК, сохранивших инфекционность, отложена по оси ординат в логарифмическом

масштабе, все экспериментальные точки укладываются на прямую, т.е. $\ln N/N_0 = -kD$, кривая «доза эффект» экспоненциальна.

Трансформирующая активность

Трансформирующая активность бактериальной ДНК часто оценивается по появлению специфических генетических маркеров у бактерий-реципиентов, «поглотивших» трансформирующую ДНК донора. Например, извлекают ДНК из бактерии, устойчивой к стрептомицину, и клетки стрептомицин-чувствительных мутантов инкубируют в ее присутствии. Если в результате этого путем рекомбинации происходит встраивание специфической последовательности нуклеотидов ДНК донора в геном реципиента, т.е. мутанты становятся устойчивыми к стрептомицину (генетический маркер), то на среде, содержащей стрептомицин, мутанты будут формировать колонии. Число таких колоний пропорционально доле молекул ДНК, сохранивших трансформирующую активность после облучения.



На рисунке показаны результаты опытов, в которых изучали трансформирующую активность ДНК после облучения электронами с энергией 1 МэВ. Для этого сухие споры *Bacillus subtilis* подвергали облучению, затем выделяли из них ДНК и инкубировали ее с клетками, не способными синтезировать индол (генетический маркер). Необлученная ДНК восстанавливала способность мутантных клеток синтезировать индол. Зависимость «доза-эффект» утраты трансформирующей активности ДНК после облучения является экспоненциальной.

Затравочная активность ДНК

Затравочная активность ДНК, т.е. ее способность служить матрицей для синтеза комплементарных нитей ДНК или РНК, также служит важным критерием для изучения инактивации нуклеиновых кислот ионизирующим излучением. Облученную ДНК инкубируют в полной ДНК-полимеразной (или РНК-полимеразной) системе, содержащей меченные рибо- и дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, а затем измеряют индекс метки в кислотонерастворимой (полимерной) фракции.

Способность ДНК к образованию гибридов с мРНК

Способность ДНК к образованию гибридов с мРНК также позволяет количественно оценить инактивацию ДНК в результате облучения. Для проведения такого эксперимента при помощи матричного синтеза на ДНК получают РНК, меченную радиоактивным фосфором. Затем ее смешивают с предварительно облученной порцией той же ДНК и инкубируют смесь в определенных условиях. В ряде опытов изучали торможение образования гибридов ДНК-РНК после рентгеновского облучения ДНК из *E.coli B* (препарат мРНК выделяли из того же объекта). Молекула мРНК воспринимала ДНК как «комплементарную», даже если она уже содержала несколько индуцированных излучением повреждений; только после накопления определенного числа повреждений способность облученной ДНК образовывать гибриды с мРНК резко понижалась.

Способность транспортных РНК связывать соответствующие

аминокислоты

Способность транспортных РНК связывать соответствующие аминокислоты можно оценить в специальных модельных системах и, таким образом, количественно оценить их инактивацию ионизирующими излучениями. Для этого препарат тРНК облучают и инкубируют с аминокислотами, мечеными по углероду С. Затем тРНК осаждают и в кислотонерастворимой фракции определяют содержание меченых аминокислот. Результаты такого эксперимента, приведены в таблице. Относительную радиочувствительность различных тРНК оценивали по величине дозы D₃₇. Наиболее радиочувствительной оказалась лейциновая тРНК.

Сравнительная радиочувствительность различных тРНК (по способности связывать соответствующие аминокислоты)

Изученный комплекс: аминокислота/тРНК	$D_{37} \times 10^4$, Гр	Изученный комплекс: аминокислота/тРНК	$D_{37} \times 10^4$, Гр
лейцин	25	пролин	58
аланин	43	метионин	62
изолейцин	46	валин	86



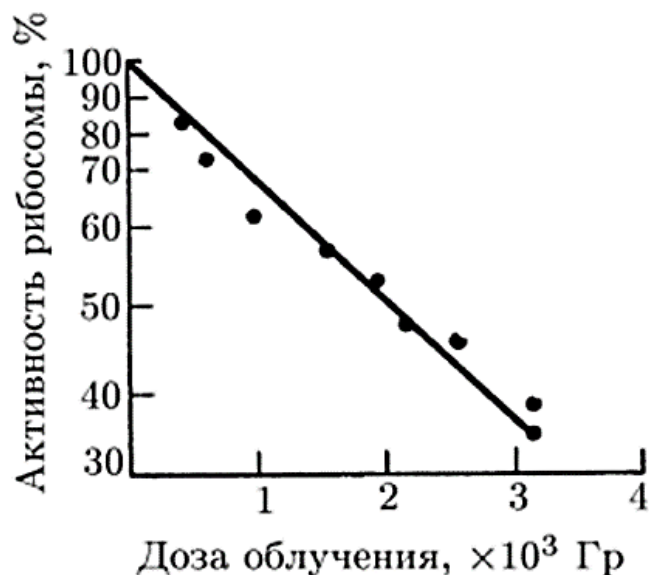
Кривые «доза-эффект» для радиационной инактивации тРНК представлены на рисунке, из которого видно, что доля молекул, сохранивших способность связывать аминокислоты, экспоненциально убывает с ростом поглощенной дозы излучения.

Инактивация сухих препаратов тРНК электронами с энергией 1 МэВ. 1, 2, 3, 4, 5, 6 — соответственно комплексы лейцина, аланина, изолейцина, пролина, метионина и валина со специфическими для каждого из них тРНК

Функциональная активность рибосом

Функциональная активность рибосом, облученных *in vitro*, оценивается по количеству белка, синтезированного в единицу времени в полной системе, содержащей соответствующие мРНК, тРНК и аминокислоты (рисунок).

Рибосомы выделяли из клеток *E. coli*, облучали и инкубировали в системе, содержащей в качестве мРНК полиуридиновую кислоту (поли-У), которая инициирует синтез полифенилаланина. Как видно из рисунка, с ростом дозы облучения экспоненциально снижается доля рибосом, сохранивших исходную синтетическую активность.



Инактивация лиофилизированных рибосом из клеток *E. coli* γ -излучением ^{60}Co .

Таким образом, в модельных системах *in vitro* можно анализировать инактивацию нуклеиновых кислот и надмолекулярных комплексов, в которые входят эти макромолекулы. Особый интерес представляют исследования радиационного поражения хроматина. Эти эксперименты приближают нас к пониманию реальных процессов инактивации ДНС в клетке

Прямое действие радиации на молекулы ДНК, иРНК, тРНК и сложные надмолекулярные ансамбли – рибосомы – приводит к утрате ими биологических функций, связанных с репликацией, транскрипцией и трансляцией генетического кода. Такого рода эффекты имеют решающее значение при действии радиации на вирусы, бактерии, клетки и сложные многоклеточные системы. Поэтому изучению механизмов инактивации нуклеиновых кислот ионизирующим излучением уделяется большое внимание.

Три стадии действия ионизирующих излучений на биологические объекты: физическая, физико-химическая, химическая и биологическая

Последовательность событий, происходящих от момента непосредственной передачи энергии излучения макромолекуле и до появления в ней стойких структурных и функциональных изменений, делится на 3 стадии:

1. Физическая стадия:

Энергия излучения переносится веществу, возникающем возбуждении ионизирующей молекулы, неравномерно распределяется в объёме вещества.

$$t_1 = 10^{-16} \div 10^{-13} \text{ с}$$

Для выяснения природы первичных физических процессов необходимо определить параметры «мишени», ответственной за инактивацию молекул. Для решения этой задачи необходим формальный анализ кривых «доза-эффект», сопоставление эффективности излучений с различными ЛПЭ и с различной мощностью дозы, теоретические исследования величин «энергетических пакетов», переносимых молекуле в единичном акте взаимодействия излучения с веществом. Для этой цели привлекаются квантовомеханические представления и сложный математический аппарат.

2. Физико-химическая стадия:

Состоит из различных типов реакций, приводящих к перераспределению между возбужденными молекулами избыточной энергии.

$$t_2 = 10^{-13} \div 10^{-10} \text{ с}$$

Облученные молекулы, находящиеся в различных электронно-возбужденных состояниях, в течение физико-химической стадии имеют много возможностей для дальнейших превращений. В результате появляются разнообразные активные продукты: ионы, радикалы. Поэтому в веществе, состоящем даже из одного типа молекул, облучение генерирует ионы и радикалы с широким спектром химических свойств.

Для изучения этой стадии исследуют спектр первичных продуктов, возникающих в результате физико-химических процессов перераспределения избыточной энергии, поглощенной молекулами. Особая роль здесь принадлежит методу электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и другим способам идентификации свободных радикалов.

3. Химическая стадия

На этой стадии ионы и радикалы взаимодействуют друг с другом и с окружающими молекулами, формируя структурные повреждения различного типа.

$$t_3 = 10^{-6} \div 10^{-3} \text{ с}$$

Для выявления разного типа структурных повреждений молекул используется современный арсенал физических и химических методов анализа макромолекул.

Первичные физические процессы. Первичные продукты радиационного превращения молекул

Рассмотрим, выполняются ли условия в случае инактивации белков и нуклеиновых кислот.

Первое условие – экспоненциальный характер кривых «доза– эффект». При облучении сухих или кристаллических белков и нуклеиновых кислот эффект облучения экспоненциально зависит от поглощенной дозы радиации.

Второе условие – независимость эффекта, от мощности дозы и от того, ка кими частями она сообщалась объекту, – также выполняется на различных изученных системах.

О выполнении третьего условия – снижения эффективности излучения с ростом ЛПЭ – свидетельствуют многочисленные опыта, результат одного из которых представлен на рисунке.

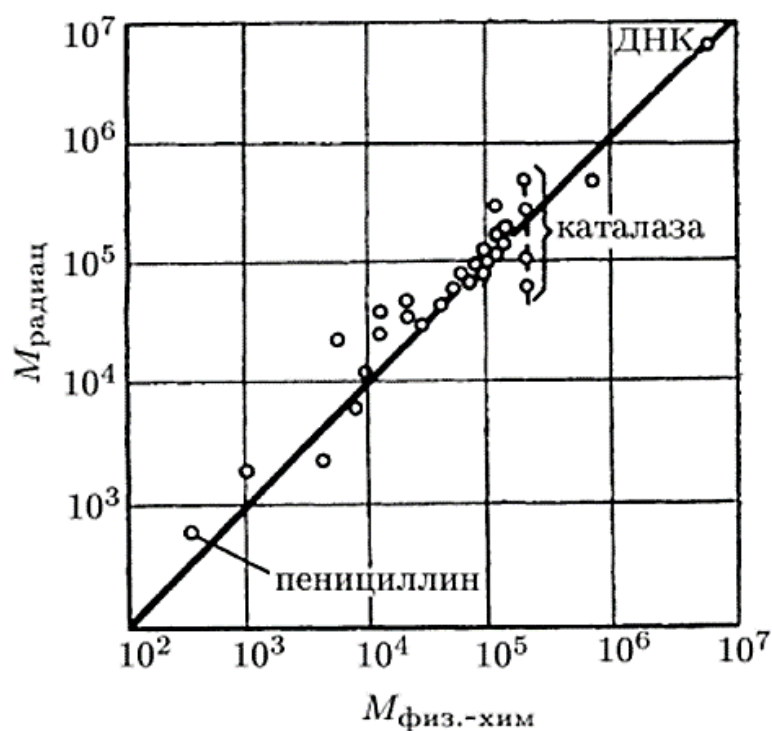


Инактивация трипсина γ -излучением ^{60}Co (1) и α -частицами полония (2) в вакууме

Если представление об одноударности процесса инактивации макромолекулы справедливо, то исходя из величины дозы D_{37} , можно определить параметры мишени – ее геометрические размеры и молекулярную массу.

На основании экспериментально установленных величин D_{37} были рассчитаны молекулярные массы мишеней, ответственных за инактивацию большого числа молекул. Во всех случаях, начиная от небольшой молекулы пенициллина, имеющей

молекулярную массу около 10^3 дальтон, и до трансформирующей ДНС массой в 10^7 дальтон, наблюдается хорошее соответствие между молекулярной массой мишени и истинной молекулярной массой соответствующей молекулы.



Корреляция между молекулярной массой веществ, определенной физико-химическими методами ($M_{\text{физ.-хим}}$) и молекулярной массой мишени, ответственной за инактивацию ($M_{\text{радиац}}$)

Представление о корреляции и этих двух характеристик дает рисунок, где по оси абсцисс отложены истинные молекулярные массы веществ, а по оси ординат – молекулярные массы мишеней, ответственные за инактивацию соответствующих молекул.

Если характеристики равны по величине, то пересечение проекций их значений в системе координат дает точку, лежащую на прямой, проходящей под углом 45° , как это в действительности

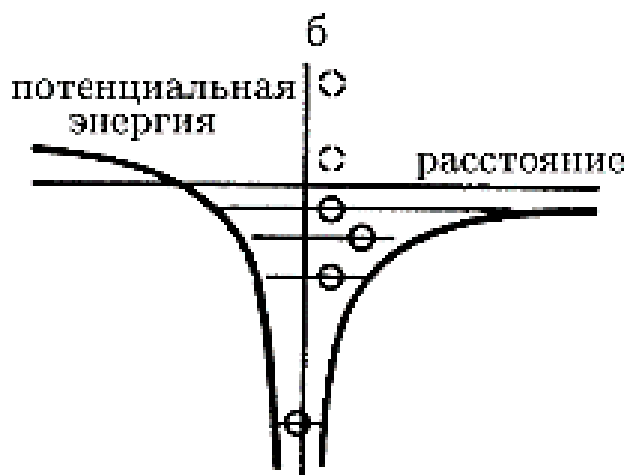
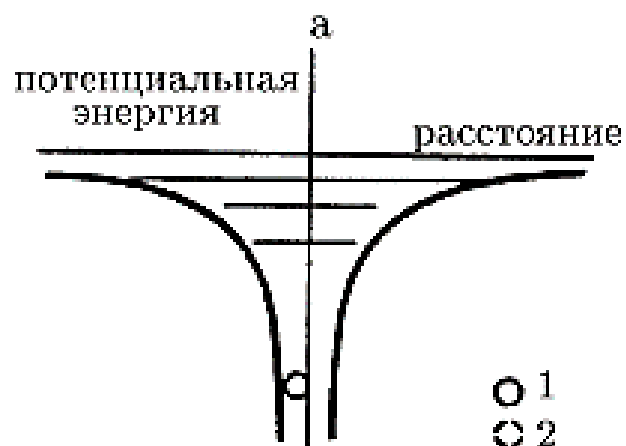
и имеет место.

В большинстве случаев размер мишени близок к геометрическим размерам молекул, т.е. одиночное событие потери энергии в любой точке молекулы приводит к ее инактивации. Этот вывод имеет важное значение. Дальнейший биофизический анализ должен исходить из того факта, что в результате одиночного взаимодействия ионизирующей частицы и молекулы с затратой энергии около 75 эВ молекула белка или нуклеиновой кислоты утрачивает различные функциональные свойства.

Между двумя этими событиями – переносом дискретной порции энергии излучения на макромолекулу и ее инактивацией – происходит ряд последовательных физико-химических процессов, которые требуют детального описания.

Первичные продукты радиационного превращения молекул

Передача энергии может происходить за счет двух типов взаимодействия – лобового и скользящего соударения. Лобовое соударение достаточно точно описывается классической электродинамикой. При этом типе взаимодействия осуществляется «прямое попадание» заряженной частицы в орбитальный электрон, который приобретает необыкновенно большой момент количества движения. Вероятность этого эффекта низка.



Кривая потенциальной энергии молекулы, взаимодействующей с полем заряженной частицы: а) молекула до наложения поля; б) после взаимодействия с полем; 1 — возбужденная молекула; 2 — ионизированная молекула

В 8-10 раз чаще происходит скользящее соударение, которое служит основным типом взаимодействия заряженной частицы с молекулами.

При описании скользящего соударения частица рассматривается как источник электрического поля, в котором содержатся фотоны всех возможных частот. Такое поле может взаимодействовать с орбитальными электронами на значительных расстояниях. В газах это расстояние («прицельный параметр») порядка 100 нм, в плотном веществе – около 10 нм. Взаимодействие электрического поля заряженной частицы с молекулой переводит ее в то или иное возбужденное состояние, в том числе и соответствующее ионизации (рисунок).

Силу, с которой электрической поле действует на молекулы, можно разложить на две составляющие: параллельную пути частицы (продольная компонента) и

перпендикулярную (поперечная компонента). Каждую компоненту можно изобразить рядом Фурье как сумму чисто гармонических функций времени:

$$E_{\text{попереч}} = \sum k_i \cdot \cos(2\pi\nu_i t)$$

«Сила осциллятора» это характеристика молекулы, взаимодействующей с заряженной частицей, которая выражает вероятность перехода, приводящего к возбуждению или ионизации молекулы.

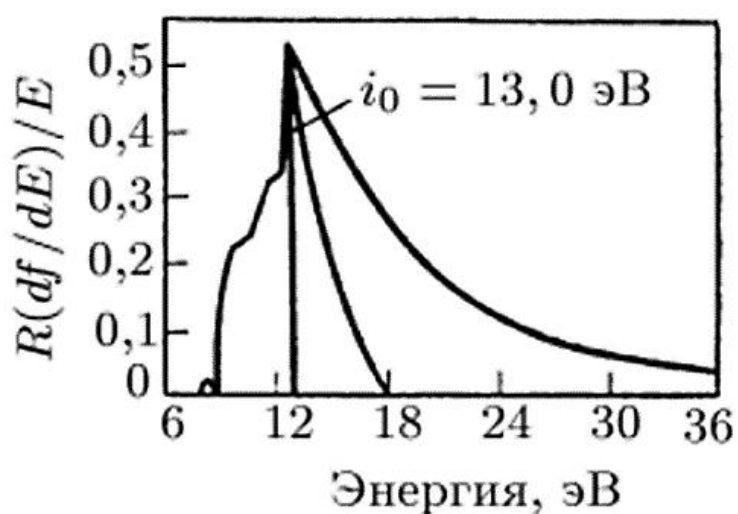
Силу осциллятора, пропорциональную коэффициенту макроскопического оптического поглощения света, соответствующей частоты, обозначают через f_s для перехода из основного состояния в дискретное возбужденное состояние s , которое появляется в результате поглощения света частотой $\nu_s = E_s / h$, где E_s – энергия молекулы в возбужденном состоянии относительно энергии в основном состоянии (энергия возбуждения). Для переходов внутри непрерывного спектра дискретную силу осциллятора нужно заменить на $df/d\nu$ или df/dE , зависящую от энергии $E = h\nu$. Обе формы выражения силы осциллятора нужно понимать как величины, усредненные по всем возможным ориентациям молекулы.

Если молекула возбуждается светом источника, дающего равное число фотонов для каждого интервала частот – от видимого света (белый свет) до рентгеновского излучения, то число молекул, активированных до состояния s , пропорционально силе осциллятора, этого состояния: $N_s = \text{const} * f_s$. Уравнение показывает, что при постоянном распределении частоты величина N_s , пропорциональна силе осциллятора. Если частота падающего света характеризуется распределением $1/h\nu_s = 1/E_s$, то число молекул, возбужденных до состояния s прохождением быстрой заряженной частицы, описывается уравнением $N_s \sim f_s / E_s$. Аналогичное выражение для непрерывного спектра: $N(E) \sim (df / E) / E$. Уравнение называют «оптическим приближением». Основное ограничение этого метода – значительная погрешность при малых значениях f_s . Однако применение оптического приближения дает хорошие результаты для анализа энергетического спектра первичных активаций, генерируемых излучением, в действующем спектре которого преобладают быстрые заряженные частицы.

Сила осциллятора f_s пропорциональна числу электронов в оболочке, в которой индуцируется активация, т.е. она максимальна для внешних оболочек; E_s , пропорциональна квадрату эффективного заряда ядра и менее значима, для внешних оболочек, так как электроны внутренних оболочек экранируют поле ядра. Поэтому, согласно уравнениям, можно сделать вывод: **активация валентных электронов** –

преобладающий первичный процесс, происходящий в результате прохождения заряженной частицы через вещество.

Анализ спектра возбуждения молекул, состоящих из атомов с $Z < 10$ и поэтому имеющих кроме валентных электронов только К- оболочку, показал, что практически все возбуждения сосредоточены в области сравнительно больших значений E . Непрерывный спектр поглощения молекул, в котором сосредоточена сила осциллятора, содержит в себе непрерывные спектры, обусловленные процессом ионизации и процессом диссоциации, а также спектр, создаваемый процессами, в которые возможна как ионизация, так и диссоциация молекулы, конкурирующие между собой (сверхвозбужденное состояние).



Спектр возбужде-
ния метана

На рисунке показан спектр возбуждения метана, построенный на основании экспериментальной оценки силы осциллятора молекулы. Видно, что из всех первичных событий, которые не приводят к ионизации, 45% составляют сверхвозбужденные состояния. Среднее значение энергии, соответствующее полосе сверхвозбуждения, равно

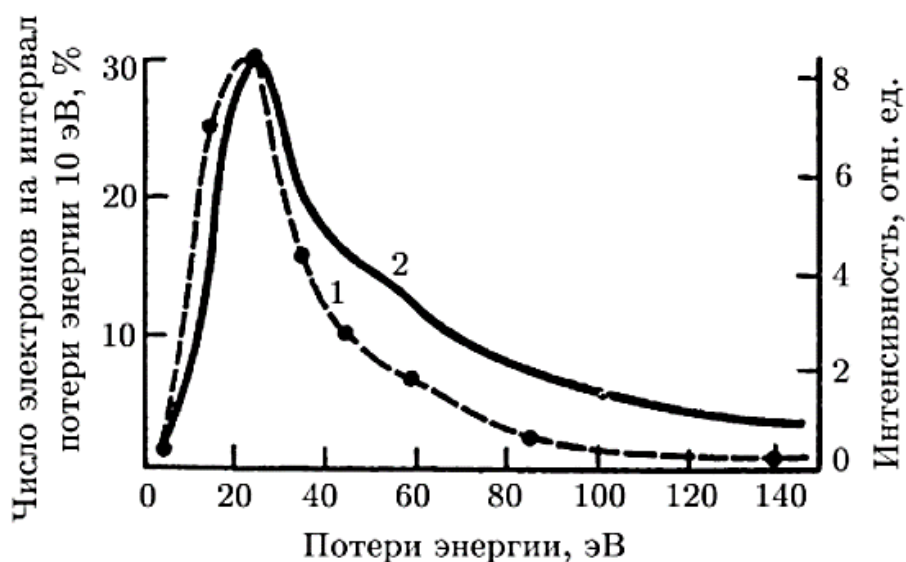
приблизительно 15 эВ, т.е. более чем в 3 раза превосходит энергию диссоциации $\text{CH}_3\text{-H}$, равную 4,4 эВ. В этом сверхвозбужденном состоянии существует конкуренция между явлениями ионизации и диссоциации. Часть спектра, обозначенная как «ионизация», соответствует тем уровням возбуждения, которые всегда приводят к ионизации.

Анализ спектров возбуждения показывает, что для большинства, органических молекул спектр сил осцилляторов лежит в области примерно 10-30 эВ над основным состоянием. Сила более длинноволновых осцилляторов невелика (исключение составляют молекулы, имеющие двойные и тройные связи: они могут возбуждаться и при меньших энергиях).

В большинстве случаев спектры энергий осцилляторов превышают потенциал ионизации. Однако не все состояния с энергиями, превосходящими потенциал ионизации, непременно приводят к ионизации молекулы. *«Сверхвозбужденные состояния» могут рассеивать энергию при внутримолекулярных изменениях или при диссоциации молекулы на два радикала.*

Только часть спектра, обозначаемая как «ионизация», относится к тем переходам, которые всегда, приводят к потере электрона.

Величину «пакетов энергии», передаваемых макромолекуле в результате одиночного взаимодействия, можно получить путем прямого измерения потери энергии электронами, проходящими через тонкие пленки, для которых вероятность более чем одного взаимодействия с электроном крайне мала.



Распределение потери энергии электронами, проходящими через тонкие слои органического вещества: 1 — электроны 20 кэВ проходят через слой полимера «формвар» толщиной 130 Å; 2 — электроны с энергией 150 кэВ проходят через пленку ДНК толщиной 2000 Å

Данные 1 на рисунке можно рассматривать как меру распределения частоты различных событий потери энергии. Из рисунка видно, что чрезвычайно редко величина потери энергии меньше 10 эВ. С наибольшей частотой при каждом первичном взаимодействии переносится пакет энергии в 22 эВ, в то время как среднее количество потери энергии на одно событие взаимодействия 60 эВ.

Спектры потери энергии в формваре и ДНК качественно сходны. Различие, вероятно, связано с неодинаковой толщиной пленок. При такой толщине слоя ДНК можно ожидать более одного события потери энергии. Следует также учесть, что оба рассматриваемых спектра включают и небольшое число лобовых соударений. Если

сделать необходимые поправки на эти эффекты, то мы получим спектр возбуждения ДНК, который позволил бы оценить спектр сил осцилляторов этой молекулы.

Итак, прямые эксперименты показывают, что на одно событие потери энергии в среднем на макромолекулы переносится 60 эВ энергии излучения. Эта величина значительно превосходит потенциал ионизации молекулы. Перенос такого большого количества энергии с высокой вероятностью переводит молекулу в ионизированное состояние. Помимо ионизированных, возникают возбужденные и сверхвозбужденные молекулы.

Относительный вклад ионизации и возбуждения в биологический эффект можно оценить некоторыми специальными методами.

Возбуждение различных осцилляторов приводит к появлению возбужденных, сверхвозбужденных и ионизированных молекул. Теоретический расчет выхода этих первичных продуктов требует знания действующего спектра, сечения возбуждения и ионизации и представляет пока еще не решенную задачу. Метод «оптического приближения» позволяет оценить соотношение этих продуктов исходя из распределения спектра сил осциллятора молекулы. Информацию о распределении силы осциллятора молекулы можно получить на основании косвенных экспериментов с использованием различных физических методов.

Образованием первичных продуктов, т.е. возбужденных, сверхвозбужденных и ионизированных молекул, неравномерно распределенных в пространстве, заканчивается первая, или физическая, стадии действия излучения.

Эксперименты показали, что среднее количество потерь энергии на одно событие взаимодействия 60 эВ. Это обозначает, что получено ионизированных состояний образуются возбужденные и сверхвозбужденные молекулы. При этом образованием первичных продуктов, т. е. возбужденных, сверхвозбужденных и ионизированных молекул, неравномерно распределенных в пространстве, заканчивается первая, или физическая, стадия действия излучения.

Физико-химическая стадия. Судьба электронов

С того момента, как в облученной системе возникли первичные возбужденные продукты, и до момента установления температурного равновесия протекает сложная

могут конкурировать процессы внутренней перестройки, сопровождающиеся смещением атомов в молекулах.

Сверхвозбужденные молекулы – это молекулы, обладающие избыточной энергией, которая превышает потенциал ионизации. Существуют экспериментальные данные, подтверждающие представления о том, что сверхвозбужденное состояние в сложных молекулах сохраняется в течение времени, примерно в 100 раз превышающего период колебаний, т.е. больше 10^{-13} с. Некоторые из сверхвозбужденных состояний возникают в результате одновременного перехода двух или нескольких электронов на более высокие энергетические уровни. Взаимодействие таких уровней может привести к концентрации энергии в одном из электронов. Если этот эффект произойдет, то электрон будет выброшен из молекулы, а сама она станет положительным ионом. С такой «автоионизацией» конкурируют процессы внутренней перестройки молекулы, в том числе и те, которые приводят к смещению атомов и переходу избыточной энергии в химическую и тепловую, что ведет к уменьшению имеющейся энергии до значений, меньших порога ионизации. Таким образом, в сверхвозбужденных молекулах существует конкуренция между процессом ионизации и диссоциации.

Ионизацию можно рассматривать как одну из форм возбуждения, при которой электрон или группа электронов приобретает настолько большой запас энергии, что выбрасывается из молекулы. Образуются ионы, находящиеся в состоянии электронного и, как правило, некоторого колебательного возбуждения. Это происходит потому, что межатомные расстояния в ионе, находящемся в основном состоянии, и в нейтральной молекуле различаются между собой, акт же ионизации происходит значительно быстрее перестройки связи (принцип Франка-Кондона). В результате ион начинает свое существование с атомными расстояниями, отличающимися от нормальных и соответствующими некоторой колебательной потенциальной энергии. Процесс внутренней конверсии, рассмотренный выше для возбужденных молекул, происходит аналогичным образом и в ионе, если ион изолирован; концентрация колебательной энергии на определенных связях может привести к его распаду. В жидкостях и твердых телах быстрое рассеяние

колебательной энергии в состоянии предотвратить распад и позволить иону перейти в низшее электронное состояние, в котором он способен существовать некоторое время. Если затем ион встретится с каким-либо отрицательно заряженным образованием (ион, сольватированный электрон и т.д.), энергия соединения может оказаться достаточной для распада молекулы на два свободных радикала.

Таким образом, дальнейшие превращения, которые испытывает ионизированная молекула, вероятнее всего приведут ее к распаду на два свободных радикала.

Судьба электронов

Электроны, выбитые из молекулы, обычно делят на две группы в соответствии с тем, больше их кинетическая энергия энергии низшего уровня электронного возбуждения молекул окружающей среды или меньше ее. Электроны первой группы взаимодействуют с электронной системой молекул, с которыми они сталкиваются, и теряют энергию в неупругих соударениях. В конце концов они переходят во вторую группу, оставляя на своем пути ряд молекул с электронными возбуждениями. В дальнейшем эти электроны теряют энергию за счет возбуждения колебательных и вращательных движений в сталкивающихся с ними молекулах.

Если в среде преобладают молекулы, у которых энергия низшего уровня электронного возбуждения существенно превышает кинетическую энергию электрона, но в этой же среде имеется небольшая доля молекул с низкими энергиями электронного возбуждения, то электроны, теряющие мало энергии при столкновении с молекулами первого типа, будут «разыскивать» и возбуждать молекулы второго типа, передавая значительно большую часть поглощенной энергии, чем это соответствовало бы их малой концентрации в среде. По данным Платцмана 15-20% всей энергии, поглощенной при воздействии высокоэнергетического излучения, передается медленными электронами, и среднее время, необходимое для достижения ими теплового равновесия со средой, составляет примерно 10^{-11} с. За время такого же порядка происходит поляризация среды вокруг замедлившегося электрона. Возникает чрезвычайно активное в химическом отношении образование, названное

сольватированным электроном (в водной среде это так называемый «гидратированный электрон», о котором подробнее сказано в следующей главе).

Процессы, происходящие на физико-химической стадии, приводят к различным типам перераспределения возбужденными молекулами избыточной энергии и, таким образом, обуславливают появление разнообразных активных продуктов (ионов, радикалов и т.д.). Эти процессы протекают в течение очень короткого интервала времени, порядка 10^{-14} - 10^{-11} с.

Химическая стадия. Структурные повреждения, возникающие в облученных макромолекулах

1. Структурные повреждения, возникающие в облученных макромолекулах

Важнейший этап биофизического анализа инаktivации молекул ИИ состоит в структурных типах повреждения молекул, выяснения природы процессов, приводящих к данному типу повреждений.

Анализ структурных повреждений, возникающих в облученной макромолекуле, представляет собой сложную экспериментальную задачу, требующую использование высокочувствительных методов исследования.

Структурные повреждения, выявляемые в облученных нуклеиновых кислотах.

При облучении сухих препаратов ДНК, возникает ряд повреждений, которые удастся количественно оценить при использовании высоких доз облучения порядка 10 Гр. Это превосходит значение дозы D_{37} .

Для выявления структурных повреждений нуклеиновых кислот, сопровождающихся изменением их размеров, используют различные методы измерения молекулярной массы препарата, т.к. молекулярная масса изменяется вследствие разрыва полимерной цепи.

Влияние облучения на состояние систем водородных связей в молекуле ДНК, оценивают по возникновению в ней участков денатурации.

Использование различных методов позволило установить, что в результате облучения сухих препаратов ДНК возникают следующие типы структурных повреждений макромолекул:

1. односторонние и двусторонние разрывы;
2. межмолекулярные поперечные сшивки полинуклеотидных цепей;
3. разветвленные цепи вследствие суммарного эффекта, которые образуются за счет присоединения обломков молекулы, образованной в результате двустороннего разрыва, к местам односторонних разрывов в цепях.

Эксперименты показывают, что все разрывы пропорциональны поглощенной дозе излучения. Это означает, что разрывы вызываются событиями поглощения энергии ионизирующим излучением.

2. Структурные повреждения облученных ферментов

Большинство исследований по радиационной химии протеинов выполнено на белках с известной первичной структурой.

Анализ структурных повреждений, возникающих в облученных препаратах рибонуклеазы, показал, что при дозах, близких к D_{37} , наблюдается:

- изменение аминокислотного состава; заметнее всего в образцах снижалось содержание 6 аминокислот: метионина, фенилаланина, лизина, гистидина, тирозина и цистина;
- нарушение третичной структуры макромолекулы, оцениваемое по изменению оптического поглощения и оптического вращения, доступности остатков тирозина, степени переваривания белка трипсином и т.д.;
- возникновение разрывов полипептидной цепи, приводящее к появлению свободных амидных групп и фрагментов молекулы;
- появление агрегатов, о наличии которых судили по изменению константы седиментации и скорости элюции при хроматографии на колонках из сефадекса;
- разрыв сульфгидрильных связей и появление свободных SH-групп.

При облучении лизоцима обнаружен несколько иной характер структурных повреждений:

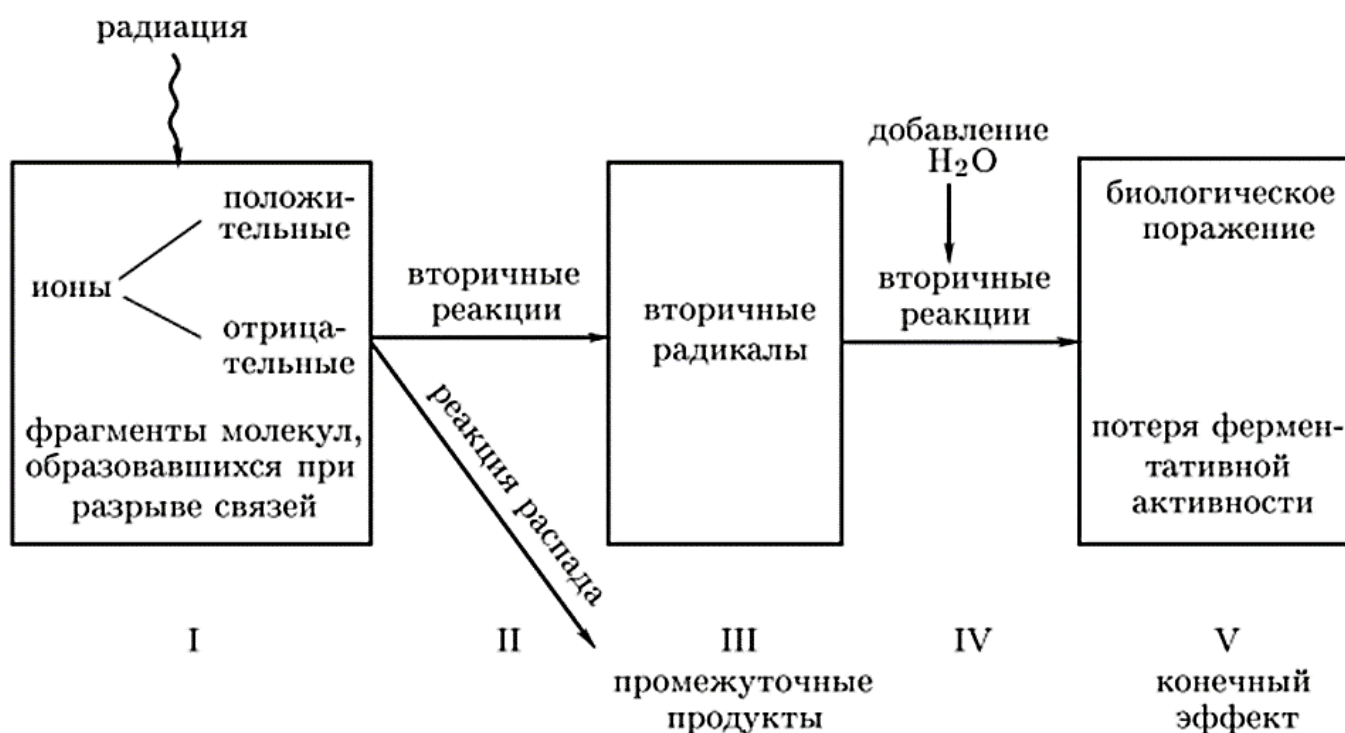
- изменяется конформация макромолекулы;
- появляется несколько компонентов, обладающих ферментной активностью;
- не обнаруживаются изменения в аминокислотном составе макромолекулы.

Исследование структурных повреждений облученного химотрипсина показало, что поглощение энергии ионизирующих излучений вызывает:

- появление новых хроматографических пиков при элюции облученного препарата; эти фрагменты утратили ферментную активность;
- возникновение конформационных изменений, выявляемых по изменению оптического вращения и уменьшению прочносвязанных амидных атомов водорода;
- разрушение аминокислотных остатков серина и триптофана (в среднем одна молекула серина и одна триптофана на молекулу фермента при дозе D_{37});
- снижение способности активного центра фермента связывать субстрат.

При облучении лизоцина обнаружен иной характер структурных повреждений. Изменяется конформация макромолекул, появляются несколько компонентов, обладающих ферментативной активностью, не обнаружены изменения в аминокислотном составе макромолекулы.

В диапазоне больших доз радиации, картина существенно усложняется за счет возникновения повторных актов взаимодействия, вызывающих дополнительные повреждения.



Свободнорадикальная модель радиационной инактивации сухих ферментов: I — спектр первичных продуктов; II — процессы, протекающие на физико-химической стадии; III — образовавшиеся промежуточные продукты; IV, V — конечный эффект — инактивация фермента

Миграция энергии излучения в биологических структурах

Анализ кривых «доза-эффект» свидетельствует о том, что инактивация фермента может произойти в результате одиночного события потери энергии излучения в любой точке макромолекулы (параметры мишени совпадают с истинными размерами макромолекулы). Представление об одноударности процесса инактивации означает, что поглощение энергии в любой точке молекулы однозначно приводит к изменению ее биологических свойств. Однако при объяснении механизма инактивации фермента в результате одиночного события попадания следует иметь в виду, что определенный тип инактивации (например, утрата субстратной специфичности) может быть связан со структурным повреждением, возникшим не в любом, а, скорее всего, в определенном участке макромолекулы.

Теоретический анализ спектра сил осцилляторов молекулы и результаты прямых измерений потери энергии, приходящейся на одно взаимодействие, показывают, что ускоренные заряженные частицы с большой вероятностью переносят к макромолекуле значительные порции энергии, в среднем около 60 эВ. Этого более чем достаточно для разрыва любой химической связи и удаления электрона из молекулы.

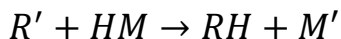
Существует ряд прямых способов доказательства миграции энергии возбуждения внутри молекулы и между молекулами.

Термолюминесценция возникает как следствие рекомбинации (по мере повышения температуры) короткоживущих продуктов, «замороженных» при температуре жидкого азота. Повышение температуры приводит к увеличению подвижности первичных продуктов (короткоживущих радикалов, электронов), что способствует реакциям их друг с другом и образованию вторичных продуктов. В процессе этих реакций и регистрируется термолюминесценция.

Измерение сигнала ЭПР. Мы уже отмечали, что характерный для исследуемого радикала сигнал ЭПР возникает в результате взаимодействия магнитного момента, неспаренного электрона с магнитными полями окружающих ядер и электронов, т.е. сигнал ЭПР изменяется в зависимости от локализации неспаренного электрона.

Реакция присоединения. Существование этого типа реакций прямо указывает на возможность переноса энергии от облученных белков к низкомолекулярным

молекулам-примесям. Перенесенная энергия расходуется на отрыв от молекулы-примеси «Н-М» атома водорода, который присоединяется к радикалу белка:



Еще один возможный механизм переноса энергии – это *миграция электронов через зону проводимости с последующим захватом их положительно заряженными «дырками»*.

Перенос энергии возбуждения и перенос электронов требуют участия специальных структур и, возможно, высоких энергий активации, тогда как экспериментально наблюдаемые значения энергии активации радикалообразования и инактивации различных молекул довольно малы. Эти факты позволяют предположить, что именно перенос радикалов имеет большое значение в процессах миграции энергии при прямом действии радиации.

Модификация лучевого повреждения макромолекул

Чувствительность макромолекул к радиационному воздействию можно изменить по меньшей мере в два или три раза в зависимости от условий во время облучения или после него.

К числу агентов, которые модифицируют радиочувствительность макромолекул, относятся *кислород, температурное воздействие, присутствие молекул-примесей* и др.

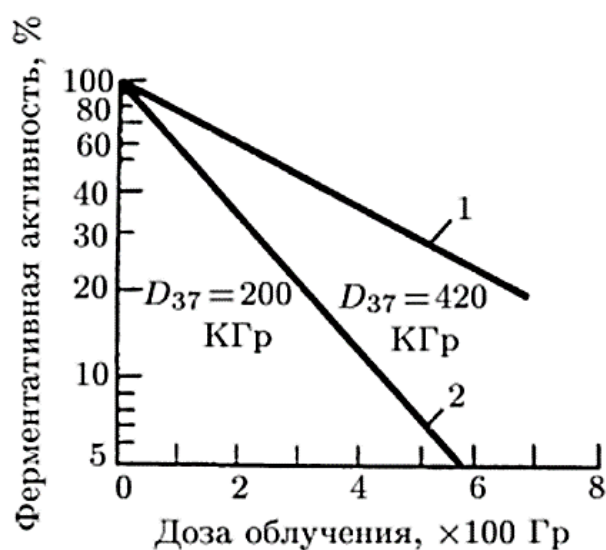
Каждый из этих факторов, естественно, не может повлиять на физический акт переноса энергии излучения к макромолекуле, и все-таки эти воздействия способны усилить или ослабить лучевое повреждение. Поэтому считают, что модифицирующие агенты влияют не на первичные акты абсорбции энергии, а на, более поздние этапы лучевого поражения.

Например, они могут изменить характер миграции энергии внутри макромолекулы или между молекулами, избирательно защитить определенные функциональные группы, репарировать лучевые повреждения или изменить характер физико-химических реакций, в которые вступают облученные молекулы.

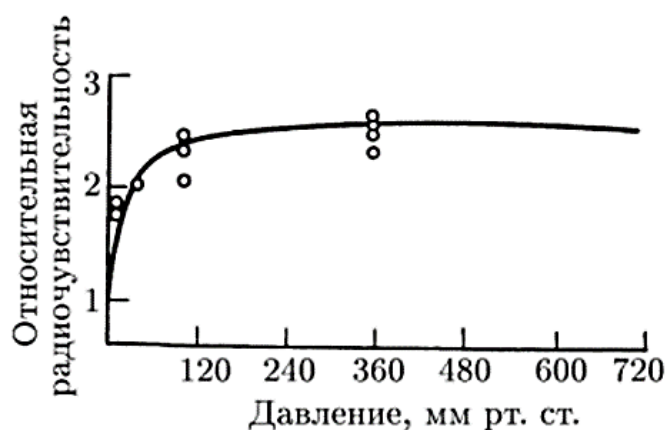
Модифицирующее действие кислорода

В экспериментах с сухими препаратами ферментов было установлено, что их радиочувствительность значительно возрастает, если облучение проводится в атмосфере кислорода, а не в вакууме.

На рисунке (инактивации сухой РНКазы) представлены результаты эксперимента по сопоставлению эффективности инактивации сухой РНКазы γ -излучением в вакууме и в атмосфере кислорода. Значение дозы D_{37} для инактивации рибонуклеазы в вакууме примерно вдвое выше, чем в атмосфере O_2 .



Инактивация сухой РНКазы γ -излучением ^{60}Co в вакууме (1) и в присутствии кислорода (2)



Относительная чувствительность сухого трипсина к действию γ -излучения в зависимости от содержания кислорода во время облучения (за единицу принята радиочувствительность трипсина в вакууме)

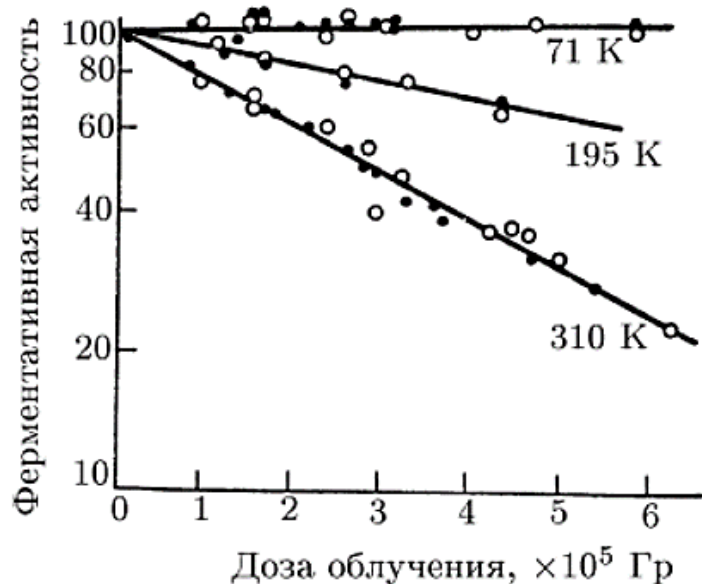
На рисунке (относительная чувствительность) видно, что даже незначительное содержание кислорода в среде приводит к резкому возрастанию инактивирующего действия данной дозы облучения. При увеличении давления O_2 примерно до 120 мм рт. ст. эффект инактивации возрастает, дальнейшее повышение содержания кислорода в среде оказывается неэффективным.

Кислородное последствие - пострadiaционное действие кислорода на ферменты, после изучения которого было показано, что при облучении ферментная активность не теряется и в анаэробных условиях может сохраняться длительное время. В отсутствие воды кислород также не оказывал инактивирующего действия, и лишь

при увлажнении препарата происходила его инаktivация под действием кислорода, степень которой увеличивалась с ростом поглощенной дозы.

Отсутствие поражения некоторых объектов при анаэробном облучении свидетельствует, что кислород не просто один из агентов, модифицирующих поражение, а необходимый участник определенных видов поражения. При этом кислород может оказать поражающее действие, присутствуя не только во время облучения, но и после его окончания.

Влияние температуры во время прямого действия радиации



Инаktivация РНКазы γ -излучением ^{60}Co в вакууме при различных температурах

Радиочувствительность многих макромолекул зависит от температуры во время облучения. Пример этого приведен на рисунке, где показана инаktivация сухой РНКазы γ -излучением при трех различных температурах.

Механизм температурного эффекта также окончательно еще не установлен. Предполагают, что константа скорости реакции (или реакций), определяющей

инаktivацию макромолекулы, зависит от повышения температуры. По крайней мере некоторыми из таких реакций могут быть взаимодействия макромолекул с атомарным водородом и другими малыми радикалами, которые высвобождаются при облучении органических материалов и, вероятно, атакуют непораженные молекулы.

Температурное последствие. В облученных белковых молекулах возникают скрытые повреждения, переходящие в явные при дополнительном тепловом воздействии. Например, возникающие внутримолекулярные повреждения приводят к инаktivации фермента после обработки облученного препарата, теплом. Тепловое воздействие эффективно и после аэробного облучения, т.е. в результате нагрева,

реализуются иные скрытые повреждения, чем те, на которые способен воздействовать кислород. Таким образом, в одной и той же макромолекуле могут возникать по крайней мере два типа скрытых повреждений: независимые от кислорода и зависимые от присутствия его. В то же время под влиянием тепла не могут быть реализованы все типы скрытых повреждений.

Природа скрытых повреждений, требующих для своей реализации дополнительного теплового воздействия, продолжает исследоваться в настоящее время.

Роль примесей

Облучение белков в смеси с рядом низкомолекулярных веществ может уменьшить радиочувствительность (эффект защиты) или увеличить ее (сенсibilизация).

Защитным действием обладают тиолы и индолилалкинамины – классические радиопротекторы.

Существуют и вещества, усиливающие радиочувствительность (сахароза). Защитное действие может осуществляться за счет высокой конкуренции за высокоактивные свободные радикалы, которые могут вызывать структурные повреждения.

Другая возможность в том, что агент способствует восстановлению повреждений молекулы. Модифицирующее действие низкомолекулярных примесей используют для выяснения роли миграции энергии при радиобиологических процессах. Использование агентов является традиционным приемом биохимического анализа.

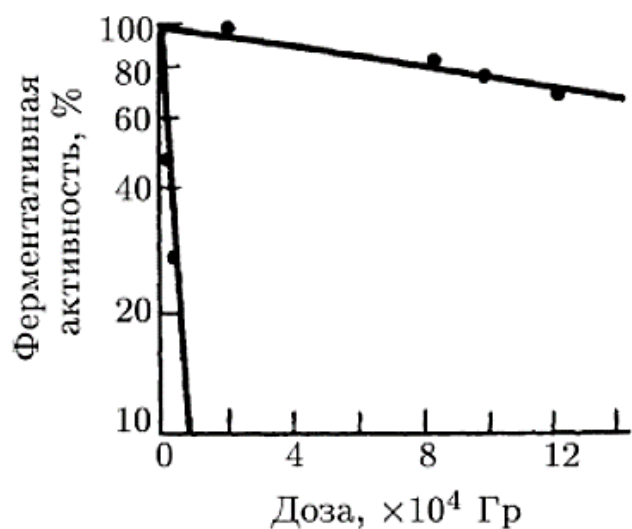
Непрямое действие излучения. Радиоллиз воды. Радиационно-химические превращения молекул воды. Гидратированный электрон

Общая характеристика непрямого действия ионизирующих излучений на макромолекулы в водных растворах

Если облучению подвергаются водные растворы в низкой концентрации, в которых каждую биомacroмолекулу окружает множество молекул воды, то

вероятность поглощения энергии ионизирующего излучения водой или органической молекулой примерно одинакова. Поэтому в разбавленных водных растворах большая часть энергии будет поглощаться молекулами воды, которых значительно больше, чем растворенных биомакромолекул.

Если в результате поглощения энергии ионизирующего излучения вода становится «химически активной», то растворенные молекулы будут испытывать дополнительное поражение.



Инактивация γ -излучением рибонуклеазы в сухом состоянии (верхняя кривая) и в водном растворе фермента в концентрации 5 мг/мл (нижняя кривая)

На рисунке сопоставлена радиочувствительность рибонуклеазы в сухих препаратах и в водном растворе. Как следует из данных эксперимента, если значение дозы D_{37} для инактивации сухого фермента составляет 420 кГр, то в водном растворе сравнимая инактивация достигается после облучения в дозе 4 кГр.

Такой результат характерен для различных макромолекул – белков, нуклеиновых кислот, и др.; в разбавленном водном растворе их радиочувствительность возрастает в десятки и сотни раз.

Зависимость «доза-эффект» при облучении водных растворов макромолекул носит экспоненциальный характер, аналогично наблюдаемому при облучении сухих препаратов. Это указывает на одноударность процесса инактивации. При однократном механизме объем мишени, ответственной за инактивацию, пропорционален $1/D_{37}$.

Для рассматриваемого случая поражения мишеней, растворенных в воде, вводится понятие «**эффективного объема**», или такого объема, из любого места которого энергия попадания, не растроченная до уровня, более низкого, чем порог действия, тем или иным путем достигнет «места действия» (например, определенного структурного звена, макромолекулы, ответственного за инактивацию) и приведет к возникновению «единицы реакции» (т.е. к инактивации фермента). В водном растворе

энергия, поглощенная растворителем, может передаваться растворенной макромолекуле за счет диффузии активных продуктов радиолиза воды.

Для сравнения энергий активации необходимо определять величину радиационно-химического выхода G инаktivации фермента, в растворе и в сухом препарате из соотношения $G = \frac{\text{число образованных или пораженных молекул}}{100 \text{ эВ поглощенной энергии}}$

В опытах с РНКазой установлено, что G в сухом препарате равна 1,68, в водном растворе – 0,89. Обе величины относительно мало отличаются друг от друга.

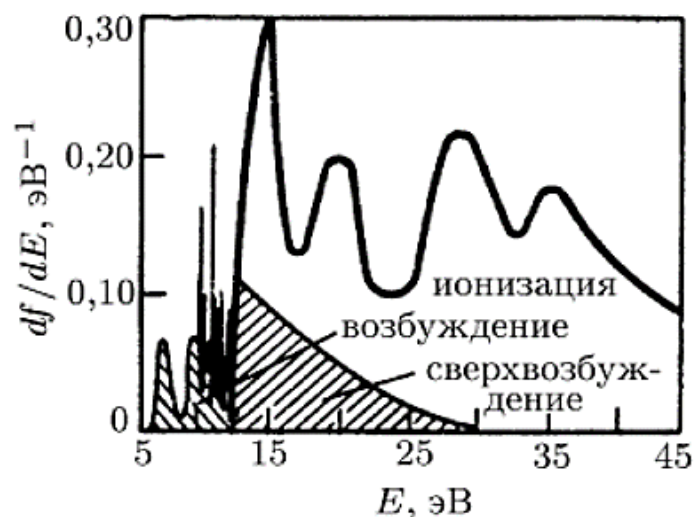
Мы можем говорить об увеличении эффективности данной дозы, которое обусловлено увеличением объема чувствительной мишени. В мишень большего размера более вероятно одиночное попадание, приводящее к инаktivации.

Для изучения механизма радиационной инаktivации растворенных в воде молекул необходимо осуществить ряд логически связанных друг с другом этапов биофизического анализа:

- изучить характер радиационно-химического превращения молекул воды, природу возникающих активных продуктов, их физико-химические свойства и реакционную способность;
- установить кинетические характеристики процесса инаktivации растворенных молекул;
- определить основные типы реакций, в которые могут вступать органические молекулы и продукты радиолиза воды;
- исследовать характер структурных повреждений, возникающих в биомacroмолекулах, взаимодействующих с активными продуктами радиолиза воды, и найти причинно-следственную связь между типами структурного повреждения и характером инаktivации растворенных макромолекул.

Рассмотрим ряд методических подходов к решению перечисленных задач и биофизических исследованиях.

Радиационно-химические превращения молекул воды.



Оптический спектр поглощения воды

На рисунке представлен оптический спектр поглощения воды, дающий представление о распределении сил осцилляторов молекулы H_2O .

В части спектра, соответствующей обычному возбуждению с энергией, меньшей потенциала ионизации $I = 12,6$ эВ, можно различить три области. Полоса непрерывного поглощения с наименьшей энергией обусловлена

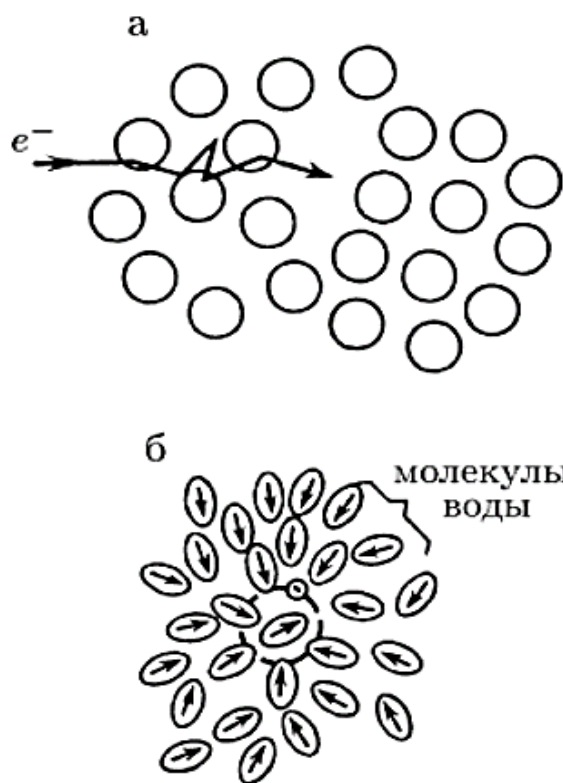
только переходом, который приводит к диссоциации с образованием основного (электронного) состояния $\text{H} + \text{OH}$ и ответственен за известную непрозрачность воды во всех фазовых состояниях для длин волн короче 180 нм. В другие полосы возбуждения входят как область непрерывного поглощения, так и ряд отчетливых полос, в которых соответствующие им наиболее распространенные первичные продукты диссоциируют на H и OH^* или H_2 и O .

Область сверхвозбуждения простирается от I_0 до энергии около 30 эВ. Сверхвозбуждение возникает в результате примерно 63% всех первичных событий, происходящих без ионизации, а конкуренция между двумя путями — ионизацией и диссоциацией — была доказана экспериментально.

До середины 60-х гг. считалось, что при облучении водных растворов макромолекул косвенное поражение их происходит за счет взаимодействия с радикалами H^\cdot , OH^\cdot и перекисью водорода.

Дальнейшие исследования привели к открытию в облученной воде особой стабилизированной формы электрона, которая получила название «гидратированный электрон».

Гидратированный электрон, обозначаемый $e^-_{\text{гидр}}$, возникает в результате



стабилизации свободного электрона в «потенциальной яме», образованной поляризованными молекулами воды (рис. а, б).

Растеряв на возбуждение и ионизацию среды большую часть энергии, электрон продолжает взаимодействовать с окружающими его молекулами до тех пор, пока он в конце концов не окажется в «потенциальной яме», так как не сможет преодолеть электростатическое отталкивание электронного облака молекулы, через которую он проходит.

Гидратированный электрон: а) схематическое представление последнего участка пути «свободного электрона» в жидкости; б) основная ориентация полярных молекул воды вокруг гидратированного электрона

Гидратированный электрон, который в химическом отношении ведет себя, как очень активный ион, вступая в реакции со многими веществами при первом соударении. Скорость реакции ограничена временем, необходимым

для того, чтобы перемещающиеся в результате диффузии реагенты «нашли друг друга». Время жизни $e^-_{\text{гидр}}$ в высокоочищенной воде приближается к 1 мс. Такое большое время жизни позволяет гидратированному электрону диффундировать на значительные расстояния от трека первичной ионизирующей частицы и взаимодействовать с растворенными молекулами.

Характеристика гидратированного электрона

$\lambda_{\text{макс}}$	720 нм
$\epsilon_{720 \text{ нм}}$	15800 моль ⁻¹ ·см ⁻¹
$\epsilon_{578 \text{ нм}}$	10600 моль ⁻¹ ·см ⁻¹
$\tau_{1/2} (e_{\text{гидр}}^- + \text{H}_2\text{O})$	780 мкс
$\tau_{1/2} (\text{нейтральная } \text{H}_2\text{O})$	230 мкс
заряд иона	-1
радиус распределения заряда (расч.)	0,25–0,3 нм
энергия гидратации	1,82 эВ
коэффициент диффузии	$4,7 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$
$E^0 (e_{\text{гидр}}^- + \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow 1/2\text{H}_2 + \text{H}_2\text{O})$	2,58 эВ
$\text{pK} (e_{\text{гидр}}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H} + \text{OH}^-)$	9,7
$k_{e_{\text{гидр}}^- + \text{H}_2\text{O}}$	16

Первичные реакции, происходящие после возбуждения и ионизации можно суммировать в виде общей схемы.

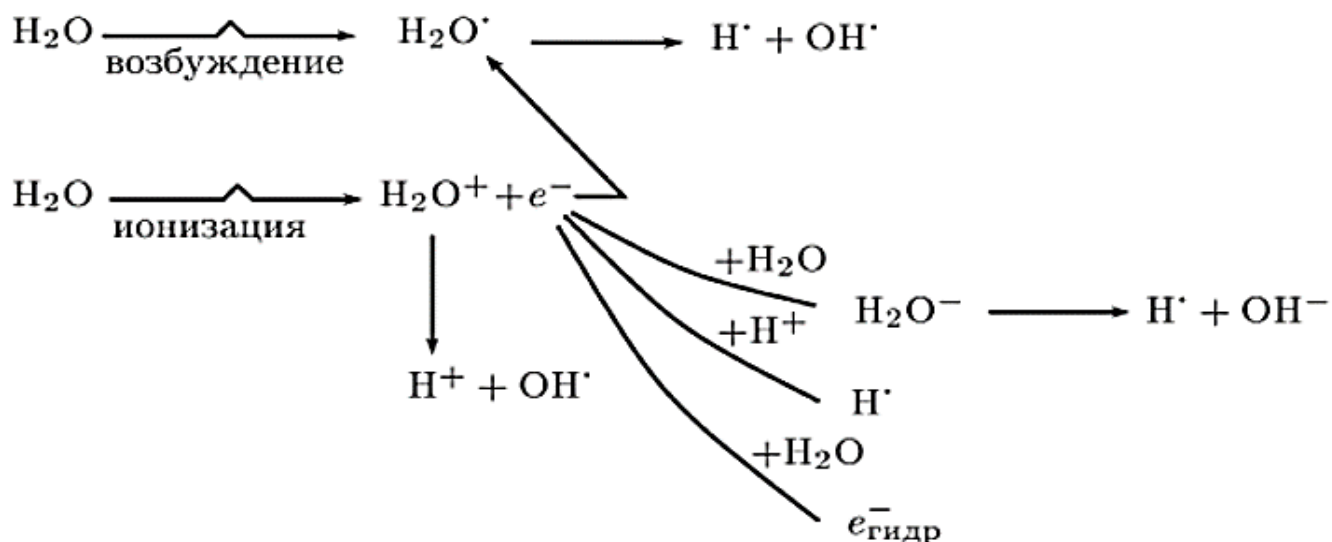
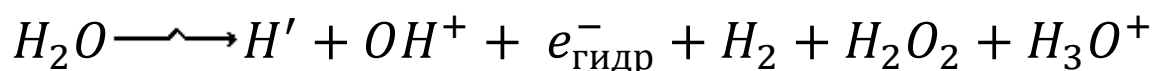


Схема образования первичных продуктов радиолиза воды

Первичные продукты радиолиза воды – радикалы H^* , OH^* , $e_{\text{гидр}}^-$ – располагаются в пространстве достаточно близко друг от друга, образуя своеобразные скопления – «рои» небольшого объема, средний радиус которых около 1,5 нм. Радиохимики называют эти скопления шпурами. В среднем на шпур приходится около 6 радикалов.

Именно в шпуре происходит рекомбинация радикалов с образованием молекулярных продуктов – H_2 и H_2O_2 .

Атаковать растворенные молекулы могут лишь те радикалы, которые не рекомбинируют, а выходят из шпура. Эти радикалы, а также молекулярные продукты радиолиза мы будем называть продуктами радиолиза воды. Образование их отражает следующее суммарное уравнение:



где H_3O^+ – принятая форма записи иона H^+ , уравнивающего отрицательный заряд гидратированного электрона.

В таблице приведены радиационно-химические выходы G продуктов радиолиза, воды.

Продукты радиолиза воды	Значение G
$e_{\text{гидр}}^-$	2,6
H'	0,6
OH'	2,6
H_2O_2	0,75
H_2	0,45

Оказалось, что при нейтральном значении рН на каждые 100 эВ поглощенной энергии излучения в наибольшем количестве образуются гидратированные электроны и радикалы OH' .

Для исследования механизмов взаимодействия продуктов радиолиза воды и растворенных макромолекул необходимо располагать надежными методами идентификации продуктов радиолиза и уметь определять их количество. Количество молекулярных продуктов – H_2 и H_2O_2 – оценивают стандартными методами химического анализа. Наличие гидратированного электрона можно зарегистрировать по характерному спектру оптического поглощения. Спектр поглощения радикала OH' регистрируют в области ниже 300 нм. В сочетании перечисленные методы позволяют исследовать типы реакций, происходящих при взаимодействии продуктов радиолиза воды с органическими молекулами.

Модификация радиолиза молекул в водных растворах

В разбавленных водных растворах веществ не прямое действие радиации, опосредованное продуктами радиолиза воды, играет ведущую роль в инактивации молекул. Последовательность протекающих процессов выглядит так.

1. В момент прохождения ионизирующей частицы через воду (в первые 10^{-18} - 10^{-16} с) вдоль ее трека возникают возбужденные, сверхвозбужденные и ионизированные молекулы, которые испытывают цепь превращений, приводящих к образованию радикалов H' , OH' , $e_{гидр}^-$:

2. Часть свободных радикалов рекомбинирует с образованием молекулярных продуктов H_2O_2 , H_2O и H_2 ; некоторые радикалы способны взаимодействовать с растворенными органическими молекулами.

3. Каждый из радикалов воды вступает в специфические реакции с растворенными макромолекулами, в результате возникают свободные органические радикалы (при этом биологически активные макромолекулы имеют высокое сродство к радикалам воды).

4. Возникшие радикалы органических молекул взаимодействуют друг с другом и с окружающими молекулами, образуя стабильные репарированные или поврежденные структуры. Характер инактивации макромолекул зависит от типа их структурного поражения.

5. Критерием непрямого действия излучения служит «эффект разбавления» и снижение относительного числа инактивированных молекул с ростом концентрации раствора.



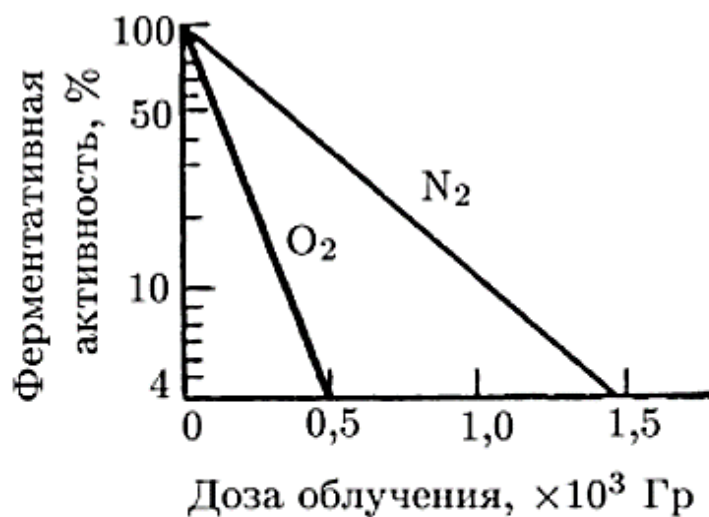
Поражение сывороточного альбумина человека γ -излучением: а) 1%-ый раствор; б) то же в присутствии $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л β -меркаптоэтиламина; в) то же в присутствии $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л тиомочевины

Эффект защиты. Если в растворе существуют молекулы-примеси, способные конкурировать с макромолекулами за активные продукты радиолиза воды, то это приводит к снижению радиационного поражения макромолекул. Справедливость такого утверждения доказана экспериментально (рисунок).

Влияние ЛПЭ излучения. Поражающее действие излучения снижается с ростом ЛПЭ излучения, т.е. рентгеновское и γ -излучения оказываются эффективнее α -частиц, или ускоренных ядер элементов. Это связано с неодинаковой линейной плотностью ионизации, которая определяет пространственное распределение активных радикалов воды. В случае плотноионизирующего излучения продукты

радиолиза формируются вдоль редких, но мощных треков ионизации, пространственно не разобщены, значит, увеличивается вероятность их рекомбинации с образованием молекулярных продуктов H_2 , H_2O и H_2O_2 . При действии редко-ионизирующего излучения радикалы воды диспергированы по всему облучаемому объему и потому с большей вероятностью достигнут растворенных молекул и вызовут их поражение.

Кислородный эффект. Наличие кислородного эффекта при прямом действии излучения доказано во многих работах. Для сухих препаратов ферментов и нуклеиновых кислот фактор кислородного эффекта равен 1,5-2,2, т.е. в присутствии кислорода макромолекулы в 1,5-2,2 раза эффективнее поражаются ионизирующим излучением.

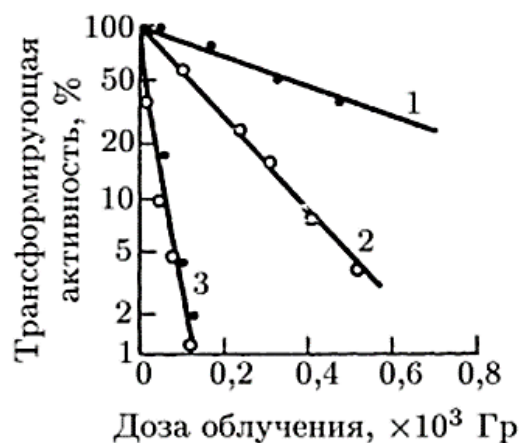


Инактивация трипсина в водных растворах (0,1 мг фермента в мл) рентгеновским излучением в аэробных (O_2) и анаэробных (N_2) условиях

В водных растворах веществ кислородный эффект либо очень мал, либо вообще отсутствует. Для ряда систем даже было показано защитное действие кислорода. Так, при облучении раствора трипсина, (рисунок) обнаружено увеличение радиочувствительности фермента, при замене атмосферы кислорода на атмосферу инертного газа.

В водных растворах ДНК наблюдают примерно одинаковое поражение ее молекул как в присутствии кислорода, так и в аноксических условиях (рисунок ниже).

В клетках инактивация трансформирующей ДНК происходит в 3,7 раза эффективнее, если клетки аэрировались во время облучения.



Инактивация трансформирующей ДНК из *Diplococcus rheumonia* в водном растворе: облучение в атмосфере азота (1) и кислорода (2) в присутствии $1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/л глутатиона М; 3 — облучение в отсутствии защитного агента

Прибавляя к раствору ДНК радиозащитные вещества (глутатион), удалось воспроизвести ситуацию, аналогичную наблюдаемой при облучении клетки. При концентрации глутатиона $1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/л трансформирующая ДНК в 3,7 раза эффективнее поражалась облучением в аэрированных растворах, чем в атмосфере азота (N_2). Так возникло предположение, что наблюдаемый в

клетках кислородный эффект связан с присутствием защитных веществ, главным образом сульфгидрильных соединений.

Модифицирующее действие кислорода на макро-молекулы, облученные в водном растворе, определяется многими факторами: присутствием защитного соединения, его сродством к кислороду, типом радикала воды, вызывающего данное повреждение макромолекулы, вкладом прямого и непрямого действия радиации в эффект поражения. Во всех случаях кислород, вероятно, не вызывает истинной сенсibilизации или защиты макромолекул, так как он не влияет на число первичных повреждений. По-видимому, действие кислорода связано с участием в процессах репарации макромолекул от начальных повреждений в присутствии защитных веществ. Поэтому в разбавленных водных растворах, не содержащих радиопротектора, кислородный эффект может отсутствовать.

Действие ионизирующего излучения на клетку. Основные реакции клеток на облучение

До настоящего времени выяснение механизмов ответных реакций клетки на действие ионизирующих излучений одна из основных проблем радиобиологии. Ее решение позволяет расшифровать природу процессов, приводящих к развитию

радиационного поражения, а также восстановления как самой клетки, так и биологических структур более высоких, чем клеточный, уровней организации.

Реакции различных клеток на действие ионизирующей радиации лежат в основе лучевого поражения сложных биологических систем – органов, тканей, организмов растительного и животного царств, включая млекопитающих.

Важно знать не только то, какие изменения претерпевают макромолекулы в клетке при действии ионизирующих излучений, но и каким образом клетка, как живая система, реагирует на возникающие в этих макромолекулах нарушения.

Основная задача радиационной биофизики состоит в изучении последовательности процессов, протекающих в живой материи в результате облучения от момента возникновения немногочисленных начальных повреждений до появления тестируемых биологических эффектов, включая гибель клетки. В настоящее время большое внимание уделяется первичным («инициальным», «запальным») физико-химическим реакциям.

В облученной клетке не существует структур, испытывающих преимущественное поглощение энергии, – возбужденными и ионизированными оказываются белки и нуклеиновые кислоты, липиды и углеводы, молекулы воды и различные низкомолекулярные органические соединения.

Элементарная качественная картина первых стадий биофизических процессов, возникающих в облученной клетке

Первая, или физическая, стадия действия излучения в облученной клетке протекает, как и в изолированных молекулах, за время 10^{-16} – 10^{-14} с. Ее иногда называют *неспецифической стадией*.

Она включает процессы поглощения, перераспределения и деградации поглощенной энергии в клетке.

Результатом этих событий служит возникновение ионизированных и возбужденных молекул, неравномерно распределенных вдоль треков ионизирующих частиц.

Процессы, происходящие на этой стадии в клетке, нельзя модифицировать – число первичных актов ионизации и возбуждения не зависит от состояния объекта, а определяется лишь свойствами излучения.

На *физико-химической* стадии за время 10^{-13} - 10^{-10} с происходят реакции заряженных и возбужденных частиц, процессы внутримолекулярной миграции энергии и диффузии радикалов, различные межмолекулярные перестройки возбужденных и ионизированных клеточных структур.

Помимо возможного прямого действия на органические молекулы в клетке, ионизирующие излучения вызывают их повреждение косвенным путем – диффундирующими $e_{\text{гидр}}^-$: свободными радикалами, образующимися в водной и липидной фазах клетки.

Возникающие первичные радикалы, как правило, неустойчивы и быстро претерпевают вторичные превращения, приводящие к образованию органических гидропероксидов и оксирадикалов органических молекул (в том числе ДНК и липидов биологических мембран), взаимодействующих друг с другом и с другими молекулами. Система, переходит в состояние теплового равновесия.

Для модификации процессов на физико-химическом этапе лучевого поражения используют химические соединения, способные изменять характер миграции энергии или вступать в реакции со свободными радикалами.

На *химической стадии*, т.е. к 10^{-7} - 10^{-6} с, в шпорах, блоках, коротких треках в клетке успевает произойти взаимодействие органических радикалов друг с другом и с окружающими молекулами, которое приводит к возникновению стойких изменений – разнообразных повреждений в структуре молекул, составляющих живую клетку. Происходит выравнивание концентраций продуктов радиолиза по объему.

В белковых макромолекулах клетки при облучении ее в высоких, летальных дозах может произойти повреждение первичной структуры (селективное разрушение отдельных аминокислот), измениться их вторичная структура; нарушиться конформация и, возможно, в конечном итоге, произойдет деградация активного центра ферментов.

Различные повреждения молекул и субклеточных структур приводят к разнообразным функциональным нарушениям и формированию ответных реакций облученной клетки, составляющих последнюю, **биологическую стадию действия излучения**.

С позиций радиационной биофизики картина развития биологической стадии радиационного поражения клетки носит в большой мере *качественный вероятностный характер*. Повреждение *in situ*, в самой клетке, каждого типа биомолекул не охарактеризовано количественно, особенно в отношении функциональной инактивации, с точки зрения масштабов биологических последствий ее при каждом уровне доз облучения и реального вклада в нарушение процессов жизнедеятельности клетки.

Нет таких биохимических процессов, которые, в зависимости от величины дозы и характера облучения, рано или поздно не претерпели бы изменений под действием ионизирующих излучений. Временная иерархия, т.е. последовательность появления стабильных структурно-метаболических радиационных изменений, проявляется в зависимости от этапов развития процессов повреждений и включения тех или иных защитных ресурсов в клетке.

Разнообразные и взаимосвязанные изменения на *биологической стадии* формируются в течение секунд, часов, суток, всего периода жизни клетки, исчисляемой для некоторых типов клеток месяцами.

Критическими для жизнедеятельности облученной клетки оказываются, в первую очередь, повреждения таких радиобиологических мишеней как ДНК и биологические мембраны. Повреждения их могут приводить к преждевременной гибели клетки посредством механизмов апоптоза или путем некроза, а в случае нелетального уровня – передаваться по наследству.

Таким образом, в клетке, в отличие от изолированных молекул и их растворов, разворачивается более сложная, многоплановая картина системного ответа на поражающее действие ионизирующих излучений.

Репродуктивная и интерфазная гибель клеток, их причины. Модификации лучевого поражения

В зависимости от стадии клеточного цикла, в которой происходит реализация процесса клеточной гибели, различают соответственно ***репродуктивную и интерфазную гибель***.

Среди многих проявлений действия излучения на жизнедеятельность клетки подавление способности к делению является наиболее важным. В связи с этим под *клеточной гибелью*, или *летальным эффектом облучения*, в радиобиологии понимают утрату клеткой способности к пролиферации* (*разрастание ткани организма путём размножения клеток делением).

Наоборот, *выжившими клетками* считают те, которые сохранили способность к неограниченному размножению, т. е. к *клонообразованию*. Таким образом, речь идет здесь о ***репродуктивной гибели клеток***.

Одна из форм радиационной инактивации клетки – *интерфазная гибель* – наступает до вступления клетки в митоз. Ранее интерфазную гибель клетки связывали с особо высокой радиочувствительностью клеток. В настоящее время интерфазную гибель клетки связывают с определённым механизмом гибели – **апоптозом**.

Апоптоз – гибель клетки в результате запуска специальной программы последовательной активации ряда ферментов, последние из которых разрезают ДНК на участки длиной в 185 пар оснований; одним из сигналов к запуску апоптоза является обнаружение повреждений ДНК во время прохождения клеткой сверхточных точек генерационного цикла; эти повреждения, однако не столь велики, чтобы вызвать **некроз**.

Некроз – форма клеточной гибели, реализуемая в случае накопления в ДНК несовместимого с жизнью количества повреждений, а также вследствие повреждения мембран.

Модификация лучевого поражения клеток

Чувствительность клеток к летальному (то есть вызывающему гибель) действию ионизирующей радиации можно повысить или понизить при помощи физических, химических и других модифицирующих факторов, изменяющих биологические

характеристики клеток (плоидность, уровень метаболитов, интенсивность дыхания и другие процессы обмена веществ).

Применение воздействий, изменяющих радиочувствительность, способствует выяснению механизмов лучевого поражения клеток. Если какой-либо из внутриклеточных процессов подвергается модификации и при этом меняется устойчивость клеток к облучению, логично предполагать связь этого процесса с механизмом лучевого поражения.

Модификация репродуктивной гибели:

Радиочувствительность быстроделющихся клеток к летальному действию радиации удается модифицировать за счет воздействий, изменяющих продолжительность отдельных стадий жизненного цикла, плоидность генома, характер внутриклеточного метаболизма. На репродуктивную гибель оказывают влияние физические параметры среды – температура, состав атмосферы, присутствие в облучаемой системе ряда химических агентов, степень замещения нуклеотидов ДНК на бромированные аналоги.

Несмотря на многолетние исследования, до сих пор окончательно не ясно, на какие внутриклеточные системы и процессы направлено действие многих модифицирующих факторов. И все же для некоторых из них можно указать предположительные механизмы оказываемого ими влияния.

✓ *Факторы, способные изменять степень начального радиационного поражения клетки:*

При облучении в присутствии **кислорода** увеличивается выход одонитевых разрывов ДНК и эффективность летального поражения клеток.

При использовании **бромдезоксинуридина** – происходит включение его в состав ДНК вместо тимидина. В результате при облучении увеличивается число одонитевых разрывов и снижается радиочувствительность.

Цистеамин и цистеин увеличивают устойчивость клеток к действию радиации при одновременном снижении выхода одно- и двунитевых разрывов в клеточной ДНК.

Таким образом, модифицируя начальное радиационное повреждение ДНК, можно изменить радиочувствительность быстроделющихся клеток, понизить неизбежность репродуктивной гибели значительной части их.

✓ *Факторы, модифицирующие процессы восстановления:*

При увеличении ploидности клетки повышаются ее устойчивость к действию излучения и способность восстанавливать генетический аппарат от повреждений. Напротив, с ростом ЛПЭ излучения эффективность лучевого поражения клеток увеличивается в 2- 3 раза, и снижается их способность к восстановлению, вероятно, за счет появления трудноустраняемых повреждений.

Ряд химических агентов, влияющих на восстановление клеток от радиационных повреждений, модифицирует радиочувствительность (актиномицин д, циклогексимид, стрептовитагин А и др.).

Известно, что на разных стадиях цикла деления клетки обладают неодинаковой по критерию гибели радиочувствительностью. Некоторые воздействия, изменяя продолжительность отдельных стадий клеточного цикла, делают иным распределение клеток в популяции «по возрасту» и, таким образом, модифицируют радиочувствительность популяции клеток.

Модификация интерфазной гибели:

Неделящиеся или медленно делящиеся клетки погибают в интерфазе до первого деления. Гибели клеток предшествует изменение внутриклеточного метаболизма и проницаемости мембран, появление морфологических признаков деградации ядерного материала. Воздействия, изменяющие характер метаболизма или защищающие ядерный материал от деградации, модифицируют интерфазную гибель.

Физические агенты – температура, газовый состав атмосферы и рН среды – изменяют радиочувствительность клеток по критерию интерфазной гибели. Так как снижение температуры и уменьшение рН способны модифицировать выраженность, частоту проявления интерфазной гибели после облучения, было высказано предположение, что эти факторы влияют на химические реакции, зависящие от температуры и рН и, возможно, имеющие ферментный характер.

Частота интерфазной гибели возрастает при облучении клеток в атмосфере чистого кислорода. Замена кислорода на азот приводит к снижению радиочувствительности. Возможно, эти агенты модифицируют начальное радиационное поражение клеток, тогда степень или особенности начального повреждения могут определять развитие интерфазной гибели.

Химические факторы, модифицирующие интерфазную гибель, делят на три группы.

В **первую** входят «*конденсирующие агенты*» – эти вещества в высоких концентрациях защищают клетки от интерфазной гибели за счет влияния на степень диспергированности хроматина. В их присутствии понижается число клеток с пикнозом ядер, но они не снижают доли погибших клеток, если интерфазную гибель оценивать по выходу K^+ , уменьшению скорости дыхания и окрашиванию красителями. Это означает, что пикноз может зависеть от диспергированности хроматина, но другие проявления интерфазной гибели связаны с иными процессами.

Вторая группа веществ включает различные дыхательные яды (цианиды, арсенал натрия, динитрофенол, йодацетат), которые уменьшают число клеток с пикнозом ядер и с пониженным количеством ДНК на клетку. Выход K^+ и окрашиваемость эритрозином Б у клеток, облученных в присутствии дыхательных ядов и без них, мало различается.

Поражение мембран не модифицируется ни первой, ни второй группой веществ.

Третья группа – различные метаболиты.

- Никотинамид, предшественник НАД, уменьшает вызываемое облучением число пикнозов ядер, но не влияет на выход K^+ и окрашиваемость клеток.

- Эффект неорганического фосфата обнаружить не удалось.

Очевидно, состояние хроматина, интенсивность дыхания и уровень содержания метаболитов играют роль в развитии интерфазной гибели клеток, однако нет модифицирующих агентов, способных в равной мере влиять на все эти параметры.

Информация, полученная с помощью модифицирующих агентов, имеет большое значение для выяснения механизмов соответствующих типов клеточной гибели

Видовая и индивидуальная радиочувствительность. Принцип Бергонье-Трибондо. Радиочувствительность отдельных органов и тканей

Под *радиочувствительностью* понимают степень реакции клеток, тканей, органов и организмов на воздействие ионизирующего излучения. Мерой

количественной оценки радиочувствительности является **доза облучения (Грэй)**, при которой наблюдается радиобиологический эффект.

Степень радиочувствительности сильно варьирует от вида к виду – **видовая радиочувствительность**, и даже в пределах одного вида – **индивидуальная радиочувствительность**.

При сравнении радиочувствительности различных биологических систем удобно использовать величину **ЛД₅₀** – дозу, приводящую к гибели 50% подвергнутых радиационному воздействию особей. В таблице в качестве примера приведена ЛД₅₀ для различных биологических видов, при γ -излучении.

Биологический вид	ЛД ₅₀ (Грэй)
Микроорганизм <i>Micrococcus radiodurens</i>	> 2000 (канал ядерного)
Растения	10 - 1500
Насекомые	10 - 100
Змеи	80 - 200
Рыбы	8 - 20
Птицы	8 - 20
Мыши разных линий	6 - 15
Крысы разных линий	7 - 9
Кролик	9 - 10
Собака	2,5 - 3
Обезьяна	2,5 - 6
Человек	2,5 - 4

Принцип Бергонье-Трибондо

Принцип Бергонье-Трибондо – правило в радиобиологии, которое в первоначальной формулировке утверждало, что клетки тем чувствительнее к облучению, чем быстрее они размножаются, чем продолжительнее у них фаза митоза и чем менее они дифференцированы. Позднее в правило Ж. Бергонье и Л. Трибондо были внесены существенные коррективы.

Таким образом, ткани с малодифференцированными и активно делящимися клетками относятся к **радиочувствительным**, а ткани с дифференцированными и слабо или вообще не делящимися клетками - к **радиорезистентным**. По этой

классификации кроветворные клетки костного мозга, зародышевые клетки семенников, кишечный и кожный эпителий являются радиочувствительными, а мозг, мышцы, печень, почки, кости, хрящи и связки - радиорезистентными. Исключение составляют небольшие лимфоциты, которые (хотя они дифференцированы и не делятся) обладают высокой чувствительностью к ионизирующему излучению. Следует учитывать стадию клеточного цикла, так как клетки, находясь в момент облучения в разных стадиях цикла, обладают различной радиочувствительностью.

Очень большие дозы вызывают гибель клеток независимо от фазы клеточного цикла. При меньших дозах цитолиз не происходит, но репродуктивная способность клеток снижается в зависимости от полученной ими дозы. Часть клеток остается неповрежденной либо может полностью восстановиться.

Радиочувствительность и лучевые реакции отдельных органов и тканей

Орган или ткань	Доза,	Эффект
Кожа и её производные	10	Максимально переносимая кожей доза при однократном внешнем воздействии Радиочувствительная Сублетальная доза 5 Гр
Семенники	0,5-1 2-4	Высоко радиочувствительны Значительное опустошение Полная стерильность
Яичники, яйцеклетка	2,5-6	Стерильность
Органы зрения	3-6	Катарактогенная доза, воспалительные процессы и конъюнктивит
Органы пищеварения	1-3	Наиболее чувствителен тонкий кишечник Развитие кишечного синдрома
Печень	15-90	Радиорезистентный орган
Сердечно-сосудистая система	3-4	Наиболее радиочувствителен наружный слой сосудистой стенки и эндотелий
Органы дыхания	От 20	Начальные изменения на уровне клеток
Кости и сухожилия		Радиорезистентны во взрослом состоянии
Мышцы	60 500- 1000	Высокорезистентные ткани Слабая атрофия Микроскопические и гистологические изменения
Органы выделения Почки	От 13	Высокорезистентны, развитие необратимого нефрита

**Продолжительность жизни млекопитающих в зависимости от дозы
облучения. Лучевая болезнь человека и ее стадии**

***Продолжительность жизни млекопитающих в зависимости от дозы
облучения***

Лучевая болезнь животных – это завершающий этап в цепи процессов, развивающихся в результате воздействия ионизирующих излучений на клетки, ткани и жидкие среды организма, общее нарушение жизнедеятельности организма.

Продолжительность жизни после облучения

Облучение ионизирующим излучением при достаточно высоких дозах вызывает гибель облученных организмов. Эта гибель происходит не сразу, а через определенные сроки после облучения, т.е. облучение фактически вызывает сокращение продолжительности жизни.

Впервые детальные исследования зависимости средней продолжительности жизни (СПЖ) погибших животных от дозы облучения были проведены в 1940-50-х годах Б. Раевским в экспериментах на мышах, подвергнутых общему однократному облучению рентгеновским излучением.

«Смерть под лучом»

При дозах свыше 1000 Гр животные гибнут практически сразу после облучения – это т.н. «смерть под лучом». «Смерть под лучом» происходит в результате денатурации жизненно важных макромолекул в клетках.

Понятие критических систем или органов

Гибель облученных млекопитающих в каждом из дозовых диапазонов происходит в результате поражения вполне определенных жизненно важных систем или органов, получивших название «критических».

Критическими системами или органами называют те жизненно важные системы организма или его органы, нарушение функционирования которых определяет летальный исход лучевого поражения.

В диапазоне доз от 3-4 до 10 Гр основной поражаемой в организме мелких лабораторных животных (мышей и крыс) системой, нарушение которой определяет

летальный исход, является система кроветворения. Поэтому тип лучевого поражения, характерный для этого дозового интервала, получил название «кроветворного», или «костномозгового синдрома».

В диапазоне доз от 10 до 100 Гр гибель происходит вследствие поражения слизистой кишечника – это т.н. «кишечный», или «желудочно-кишечный синдром».

При дозах, превышающих 100 Гр, у млекопитающих развивается «церебральный», или «ЦНС-синдром», обусловленный поражением центральной нервной системы.

Основные способы защиты животных

Физический предполагает содержание животных при радиоактивном загрязнении местности в животноводческих помещениях и других укрытиях.

Фармакохимический заключается в применении специальных противолучевых препаратов - радиопротекторов, обладающих профилактическими свойствами.

Биологический осуществляется с помощью адаптогенов - лекарственных веществ, которые повышают общую сопротивляемость организма к различным неблагоприятным факторам. Адаптогены оказывают противолучевое действие только в том случае, когда применяются многократно в течение нескольких суток или даже недель до облучения.

Лучевая болезнь человека и ее стадии

Лучевая болезнь человека – это определённый комплекс проявлений поражающего действия ионизирующих излучений на организм. Проявления острой лучевой болезни (ОЛБ) зависят от разнообразного действия факторов: вида облучения, времени облучения, пространственного фактора облучения и т. д.

ОЛБ при относительном равномерном облучении имеет три периода протекания:

- 1. Период формирования**
- 2. Период восстановления**
- 3. Период исходов и последствий**

Период формирования разделяется на 4 фазы:

I. Общая первичная реакция

Проявляется в первые минуты - часы после облучения в дозе больше 2 Гр в виде тошноты, рвоты, исчезновения аппетита, общей слабости и тошноты, гиперемии кожи и др. Продолжительность фазы 1-3 дня. Причиной появления общей первичной реакции является прямое повреждение радиочувствительных систем и преходящих вторичных сдвигов в нервно-регуляторных и гуморальных взаимоотношениях.

II. Кажущееся клиническое благополучие (латентная фаза)

Через 2-4 дня симптомы первичной реакции исчезают и состояние нормализуется. Благополучие является лишь клиническим понятием, в этот период протекают скрытые патологические процессы.

III. Выраженные клинические проявления (фаза разгара заболевания)

Клиническая картина: инфекционные осложнения, на фоне агранулоцитоза, относительный лимфоцитоз, абсолютная лимфопения, тромбоцитопения, геморрагический синдром, гипопротейнемия, гипоальбуминемия.

IV. Раннее восстановление.

Нормализация температуры, улучшение самочувствия, появление аппетита, восстановление сна, нормализация морфологического состава крови

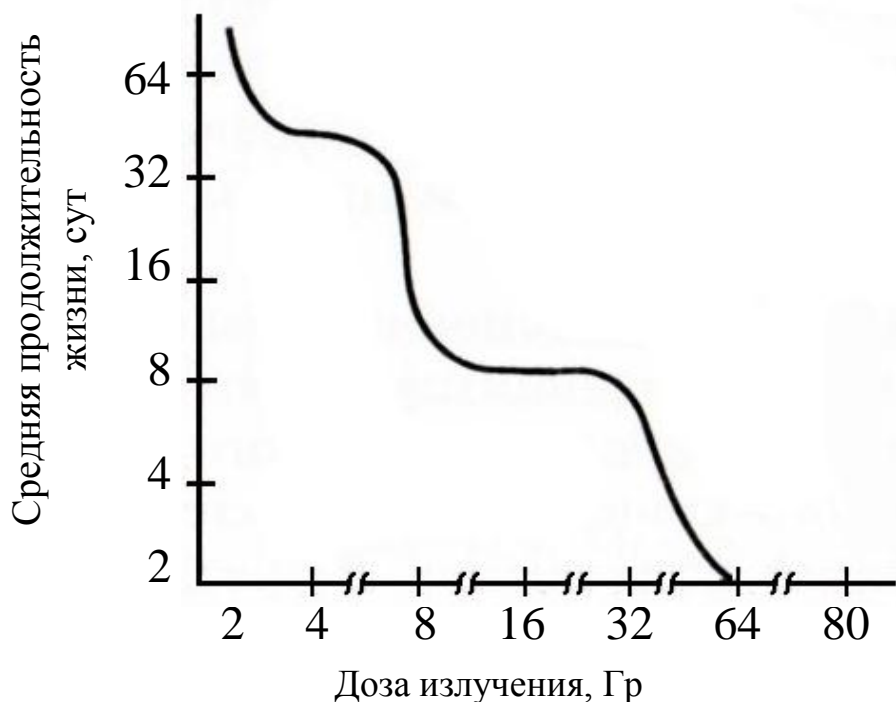
Развернутый симптомокомплекс ОЛБ возникает при облучении в дозе свыше 3 Гр. В диапазоне 1-6 Гр различают три тяжести ОЛБ: лёгкой степени (1-2 Гр), средней степени (2-4 Гр), тяжёлой степени (4-6 Гр).

Радиационные синдромы: костномозговой, желудочно-кишечный, церебральный

В 40-х годах 20 века исследованиями Б. Раевского и Г. Квастлера было обнаружено, что в определённых диапазонах, несмотря на увеличение дозы, средние сроки гибели животных не меняются.

Соответствующая кривая, описывающая зависимость средней продолжительности жизни мышей от дозы излучения состоит из трёх участков и приведена ниже на рисунке.

Зависимость средней продолжительности жизни человека и обезьян от дозы излучения (в логарифмическом масштабе по основанию 2)



Рассмотренные участки кривой отражают три основных радиационных синдрома:

- 1. Костномозговой (кроветворный)**
- 2. Желудочно-кишечный**
- 3. Церебральный**

Такого рода ступенчатый характер отмирания связан с выходом из строя критических систем, обнаружен для млекопитающих разных видов. Разрыв между дозами, начинающими вызывать определённые формы гибели, указывает на разницу в радиочувствительности отдельных систем по критерию поражения, несовместимого с жизнью.

(1)

При облучении в дозах до 10 Гр в организме развивается типичный костномозговой синдром. Происходит катастрофическое опустошение клеток

костного мозга, происходящего в самые ранние сроки после облучения. Основная причина состоит в резком торможении процессов клеточного деления при продолжающемся с неизменной скоростью поступлении зрелых элементов на периферию. По времени проявляется в среднем от 4-7 суток и продолжается до 20-25 суток. Происходит резкая гранулоцитопения, с позднее присоединяющейся тромбоцитопенией. Основной причиной летальных исходов являются стремительно развивающиеся инфекционные процессы, сопровождающиеся геморрагиями.

(2)

У млекопитающих наиболее важные изменения после облучения происходят в тонком кишечнике. При этом наблюдается клеточное опустошение ворсинок и крипт кишечника. Дегенеративная и регенеративная фаза более кратковременна, что связано с более ускоренным прохождением клеток кишечных крипт процессов дифференцировки. Кроме того, в радиационном поражении стволовых клеток эпителия кишечника большую роль играет апоптоз, в который они входят вскоре после облучения. Кишечный синдром включает такие определяющие летальный исход механизмы, как оголение ворсинок, инфекционные процессы, поражение кровеносных сосудов, нарушение баланса жидкостей и электролитов.

(3)

Ответ ЦНС на облучение принципиально отличается от реакций костного мозга и кишечника отсутствием клеточных потерь. Это связано с тем, что зрелая нервная ткань – непролиферирующая система, состоящая из высокодифференцированных клеток, замещение которых в течение жизни не происходит. Гибель клеток, приводящая к церебральному синдрому, происходит при огромных дозах, порядка сотен грэй, приём до сих пор не выяснено, является ли причиной гибели нервных клеток их непосредственное повреждение или она вызвана опосредованно повреждениями других систем, прежде всего кровеносных сосудов.

Генетический эффект облучения. Отдаленные последствия облучения.

Репарационные процессы в облученном организме

Одним из проявлений лучевого поражения клетки является «генетическая нестабильность», под которой понимается длительное сохранение отклонений в

строении и функционировании генетического аппарата, в конечном счёте, ДНК-белкового комплекса. В опытах наблюдается высокая частота хромосомных перестроек примерно до 30 генераций у 10% клеток (облучение клеток китайского хомячка), также наблюдаются хромосомные сдвиги и при исследовании клеток *in vivo*. Механизмы индукции и поддержания генетической нестабильности не вполне ясны. Имеются данные, как о роли прямого поражения ДНК, так и о влиянии на генетическую нестабильность изменённого клеточного метаболизма, в частности увеличения продукции свободных радикалов. Введение в среду перехватчиков радикалов и угнетение синтеза внутриклеточного глутатиона резко снижает частоту мутаций.

Отдаленные последствия

Это различные изменения в организме, которые возникают спустя месяцы, годы.

Принято различать 2 типа последствий:

1) Соматические (у облученных индивидов)

- сокращение продолжительности жизни
- злокачественные новообразования (катаракта)
- изменения кожи, соединительной ткани, кровеносных сосудов, почек, легких

2) Генетические (у потомства)

- доминантные и рецессивные мутации

Доминантные — характеризуются возникновением в зародышевых клетках, приводят к снижению вероятности зачатия или рождаемости.

В активнопролиферирующих клетках мутации приводят к гибели самих клеток и их потомков. В покоящихся клетках мутации являются причиной возникновения новообразования.

Рецессивные — вызывают повреждения отдельных генов. Если в половых клетках, то эффект облучения проявляется в последующих поколениях, подчиняясь законам расщепления признаков.

Репарационные процессы в облученном организме.

Возникающие в молекуле ДНК разнообразные повреждения частично могут быть устранены с участием систем репарации. В настоящее время о работе этих

систем известно довольно много, включая строение многих генов, кодирующих белки, осуществляющих репарацию.

К основным системам репарации относятся:

1. **Прямая репарация** (наиболее простой путь устранения повреждения, в ней задействованы специфические ферменты, устраняющие повреждения в одну стадию. К ферментам относятся: Об-метилгуанин-ДНК- метилтрансфераза, ДНК-инсертаза, фотолиазы).
2. **Экцизионная репарация** (Для репарации необходима комплементарная цепь ДНК, удаляет повреждённые азотистые основания, принимают участие несколько ферментов).
3. **Репарация однонитевых и двунитевых разрывов. Репарация рекомбинацией.**

Кислородный эффект. Радиопротекторы и механизмы их действия

Явление зависимости тяжести лучевого поражения от содержания кислорода в окружающей клетки среде называют **кислородным эффектом**. При повышении концентрации O_2 в среде (увеличение парциального давления O_2) происходит усиление поражения клетки и наоборот.

Данное явление было замечено в 1912 г. Г. Шварцем, после рентгенотерапии опухолей. На гиперемированной коже больных, облучённых ионизирующим излучением, оставалась светлая область, повторяющая форму окна тубуса рентгеновской трубки., которую плотно прижимали к коже. Соответственно уменьшение кровотока и появление локальной ишемии в области давления трубки приводило к уменьшению лучевого поражения.

Механизмы кислородного эффекта:

1. Кислород обладает электроноакцепторными свойствами, благодаря которым он присоединяется к радикалам ДНК, образующимся при прямом и косвенном действии излучений. При ионизации атомов на одном из участков макромолекулы образуется неспаренный электрон, который и захватывается O_2 на свою орбиту. Таким образом O_2 присоединяется к молекуле ДНК в месте разрыва химической связи, что приводит к снижению эффективности её репарации.

2. O_2 также способствует формированию более активных продуктов радиолиза воды, увеличивая число первичных повреждений макромолекул.

Радиопротекторы

Радиопротекторы – это вещества, повышающие устойчивость организма к воздействию ионизирующих излучений. К ним относятся соединения, оказывающие противолучевое действие при введении за несколько минут или часов до облучения. Наиболее эффективные радиопротекторы – меркаптоамины, индолилалкиламины, синтетические полимеры, полинуклеотиды, мукополисахариды, цианиды, нитрилы и др. Наиболее эффективны смеси из нескольких радиопротекторов.

Механизмы действия радиопротекторов:

1. Перехват и инаktivация свободных радикалов.
2. Изменение окислительно-восстановительного потенциала.
3. Повышение уровня эндогенных SH – групп (сульфгидрильная гипотеза).
4. Функция повышения «биологического фона радиорезистентности». Примером является увеличение фона эндогенных аминов (серотонина, дофамина, гистамина) с одной стороны, и уменьшение содержания продуктов окисления липидов.
5. Изменение напряжения O_2 в клетках и как следствие развитие кислородного эффекта.
6. Ряд радиопротекторов влияют на увеличение объёма репарации ДНК.
7. Замедление клеточного метаболизма и как следствие снижение повреждающего действия ионизирующего излучения.

К табельным радиопротекторам относятся: цистамина гидрохлорид, индралин Б190, препарат С – нафтизин.

Биологическое действие инкорпорированных радиоактивных веществ

Животный объект может подвергаться не только внешнему облучению, но и воздействию поступающих в организм инкорпорированных радиоактивных веществ (радионуклидов). Количественной оценкой биологических эффектов, под влиянием поступивших в организм радионуклидов, занимается радиотоксикология.

Особенности инкорпорированного радиоактивного воздействия:

1. **Тропность** конкретных радионуклидов к определённым органам и тканям, которые подвергаются наибольшему облучению.

2. **Неравномерность** облучения вследствие различий в органотропности радионуклидов.

3. **Протяжённый характер облучения.** Даже при однократном поступлении радионуклида облучение происходит длительно, иногда в течение всей жизни с постоянной или постепенно уменьшающейся мощностью дозы.

Радиоактивные вещества могут поступать в организм тремя путями: с пищей и водой в желудочно-кишечный тракт (*оральный путь*), через лёгкие (*ингаляционный путь*) и кожу (*транскутальный путь*). Судьба поступивших в организм радионуклидов зависит от их свойств и химической природы. Существуют три основных типа распределения радионуклидов в организме:

1. **Скелетный** (Радионуклиды щелочноземельной группы элементов – Ca, Sr, Ba, Ra)

2. **Ретикулоэндотелиальный** (Нуклиды редкоземельных элементов – Ce, Pr, Pm, Zn, Th, Am)

3. **Диффузный** (Нуклиды щелочных элементов – K, Na, Cs, Rb и нуклиды H, N, C, Po)

Наибольшей опасностью обладают продукты ядерного деления (ПЯД). ПЯД представляют собой смесь более 200 радиоактивных изотопов 36 элементов средней части от Zn до Gd. Попадая в организм, они в процессе обмена заменяют стабильные элементы и при распаде образуют нуклиды соседних групп.

По способности накапливать радионуклиды основные органы располагаются следующим образом:

- щитовидная железа (максимум),
- печень,
- кишечник,
- почки,
- скелет,
- мышцы.

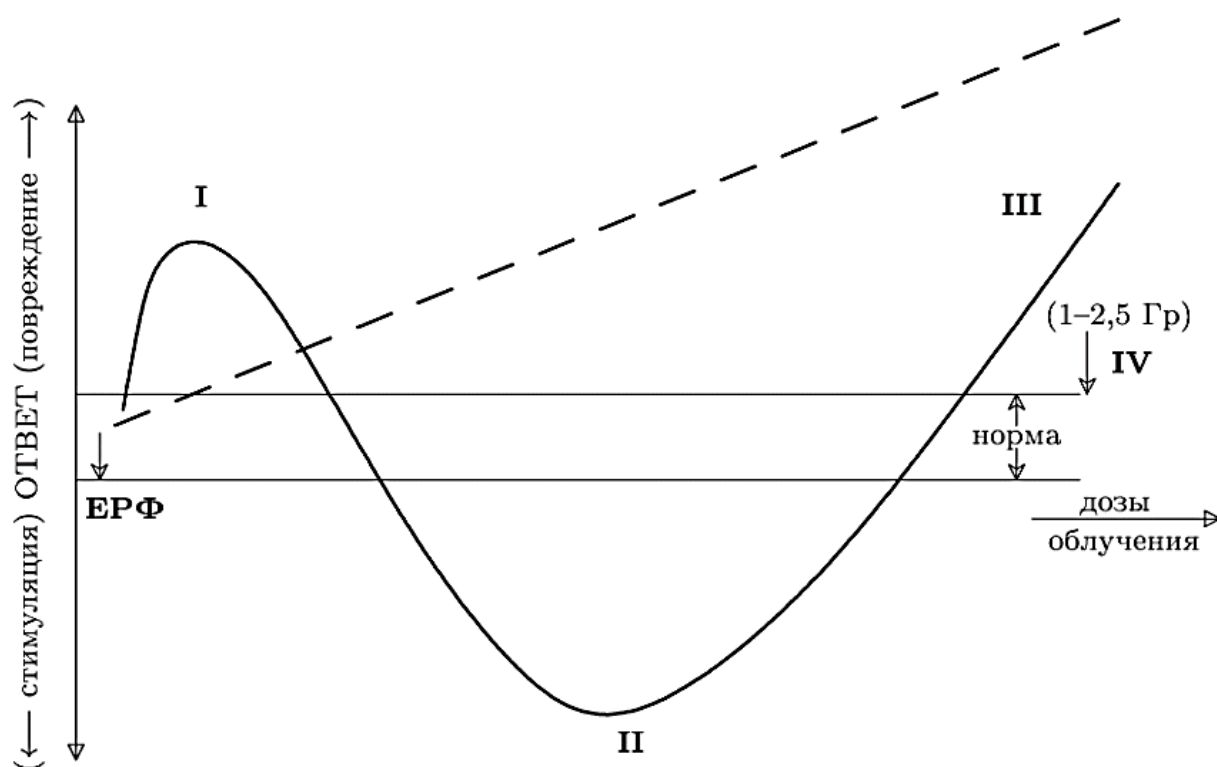
Лечение при поражении ПЯД направлено на возможно быстрое их выведение из организма, предотвращение их сорбции в желудочно-кишечном тракте.

Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации.

Радиационный гормезис. Радиационно-индуцированный адаптивный ответ

Концепции биологической значимости поглощения энергии ЕРФ и вторичного спонтанного испускания излучений живыми системами являются важным шагом в расширении радиационно-биофизических представлений и нуждаются в дальнейшем развитии на основе экспериментальных исследований.

В конце прошлого столетия появились сообщения о том, что однократное облучение клеток млекопитающих в сверхмалых дозах от исходной «нулевой» отметки ЕРФ до прим. 5-20 сГр, вызывает у них так называемый эффект гиперрадиочувствительности (на рис. I), оцениваемой по биохимическим (нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза) и цитогенетическим показателям (абберации хромосом, выход клеток с микроядрами, злокачественная трансформация и др. прецизионные показатели), имеющим при больших дозах облучения связь с выживаемостью клеток.



Биологические эффекты облучения организмов в сублетальных дозах. ЕРФ — «ультрамалые дозы» естественного (природного) радиационного фона; I — эффекты облучения в «сверхмалых» дозах, феномен гиперрадиочувствительности; II — эффекты облучения в малых дозах, вызывающих стимуляцию биологических процессов — гормезис; III — развитие структурно-функциональных повреждений при облучении в «средних сублетальных» дозах; IV — условная граница между «большими» и «средними» дозами для млекопитающих составляет ~ 1-2,5 Гр. Пунктиром обозначена линейная экстраполяция из области больших доз

В настоящее время этот феномен показан более чем на трех десятках линий клеток млекопитающих, а также в опытах на многоклеточных организмах.

Обнаружено, что уже при незначительном (на 1-3 порядка) превышении ЕРФ при общем однократном облучении в диапазоне сверхмалых доз наблюдается характерный «колоколообразный» по форме кривой всплеск оксидативных изменений в липидах.

Обнаруженное изменение получило название **эффекта сверхмалых доз** или «**эффекта колокола**». Показано, что в основе его лежат нарушения конкурентных отношений между про- и антиоксидантами в окислительно-восстановительном гомеостазе, возникающие при облучении в сверхмалых дозах в клетках и тканях животных и растений, одиночных клетках и биологических мембранах. Эти изменения наблюдаются как при кратковременном, так и пролонгированном облучении в сверхмалых дозах.

Изменения внутриклеточных структур, а также содержания биологически активных веществ, участвующих в механизмах реализации первичных реакций оксидативного стресса, наблюдаются после облучения в очень незначительных по величине дозах и *отражают асинхронность конкурентных процессов повреждения и репарации, окисления и восстановления.*

Радиационный гормезис

Гормезис – это неспецифический эффект воздействий на живые организмы в малых дозах (концентрациях), вызывающих изменения, диаметрально противоположные повреждающим эффектам при воздействии в больших дозах.

Анализ характеристических показателей гормезиса для разнообразных химических веществ показал, что вызываемый последними эффект имеет пределы выраженности: высота стимуляции в максимуме обычно не превосходит 130-160% от контроля, а верхний предел дозы или концентрации, при которой еще наблюдается гормезис, обычно не превышает более, чем в 10-20 раз минимальные значения дозы (концентрации), при которых эффект стимуляции возникает.

Биологический эффект ионизирующих излучений в малых дозах, которые в отличие от воздействия в больших, повреждающих дозах оказывают диаметрально противоположное, «благоприятное», стимулирующее действие на рост, развитие и

жизнедеятельность клеток и многоклеточных организмов, стал носить название «радиационный гормезис».

Стало очевидным, что гормезисные эффекты, производимые радиацией в малых дозах, характеризуются теми же свойствами и теми же характеристическими параметрами описывающих их графиков, что и при химическом гормезисе. Это является еще одним доказательством проявления неспецифической защитной реакции организмов и клеток на лучевые воздействия.

Облучение в малых дозах вызывает неспецифический ответ, а одно из проявлений его – гормезис – аналогичен стадии адаптации стрессовой реакции.

Примеры сравнения биологических эффектов действия ионизирующих излучений в больших и малых дозах

Объект исследования	Критерий действия радиации	Результат действия радиации в дозах	
		больших	малых, вызывающих гормезис
парамеции, фито- и зоопланктон, дрожжи, клетки в культуре	скорости деления клеток, роста популяции, синтеза ДНК	понижение, вплоть до полного прекращения процесса	возрастание
семена, растения	всхожесть семян, рост, развитие растений	задержка, прекращение	стимуляция
эмбрионы насекомых и птиц	рост и развитие	задержка, прекращение	стимуляция
насекомые, птицы, рыбы, млекопитающие	плодовитость	падение	возрастание
животные, человек	иммунитет	угнетение	активация

Как видно из таблицы, эффект гормезиса обнаруживается на разных уровнях организации живых систем и проявляется событиями, противоположными наблюдаемым при больших дозах.

В связи с резким различием видовой радиочувствительности абсолютные величины диапазона малых доз для разных биологических объектов, как уже отмечалось, сильно отличаются. Область малых доз, вызывающих гормезис, лежит, как правило, ниже полуметальных доз LD₅₀ на один-два порядка при внешнем общем однократном облучении. Например, для человека и ряда млекопитающих LD₅₀ составляют 4–5 Гр. Поэтому дозы для них от 0,4-0,5 Гр и ниже могут быть отнесены к малым. Полуметальная доза для многих семян растений существенно выше и находится в диапазоне 200-500 Гр. Следовательно область малых доз для них имеет верхнюю границу, характеризуемую уже более высокими величинами, т.е. 2-5 Гр.

Некоторые особенности действия радиации в нелетальных дозах

В отличие от действия ионизирующих излучений в больших дозах, облучение в малых, нелетальных дозах в определенных диапазонах обладает способностью вызывать «**индуцированную резистентность**» — повышение устойчивости биологических объектов к экстремальным радиационным воздействиям, в результате чего обнаруживается обратная зависимость биологических изменений от мощности доз облучения.

Особенности действия ионизирующей радиации в нелетальных (малых и средних) дозах в сравнении с действием в больших, летальных дозах на одиночные клетки, растения и животных

Критерий действия радиации	Результат действия радиации	
	больших дозах	в малых и средних дозах
устойчивость к повторному облучению в большой дозе (D_2)	понижается	возрастает (радиоадаптивный ответ)
эффективность мощности дозы облучения	прямая зависимость радиобиологического ответа от мощности дозы облучения	более эффективно пролонгированное или хроническое облучение с малой мощностью дозы по сравнению с большой мощностью (непрямая зависимость радиобиологического ответа от мощности доз)

Радиационно-индуцированный адаптивный ответ

Радиационно-индуцированный адаптивный ответ («радиоадаптивный ответ») – это реакция биологических объектов, которая заключается в том, что после действия излучения в малых, адаптирующих дозах D_1 при повторном облучении через определенный интервал времени в больших, проявляющих дозах D_2 радиобиологический эффект от дозы D_2 понижается, иными словами, облучение в малой дозе в определенном интервале доз способно вызывать состояние повышенной радиоустойчивости.

Особенностью радиоадаптивного ответа обычно являются многократные различия в величинах адаптирующей D_1 и проявляющей D_2 доз облучения, а также фиксированные интервалы времени между двумя экспозициями (например, для мышей и крыс – две недели, а для клеток млекопитающих – 4-6 часов).

Эти параметры подвержены колебаниям в зависимости от объекта исследований, условий облучения и выбранного радиобиологического теста.

Способность ионизирующих излучений к формированию адаптивного ответа зависит не только от величины дозы облучения, но и от ее мощности.

Следует отметить, что способность к реакции адаптивного ответа обнаружена не у всех клеток. Доля случаев, когда не удастся обнаружить этот ответ, возрастает для популяций, находящихся в условиях с повышенным радиационным фоном, а также при патологиях, в том числе наследственных

Повышение радиорезистентности происходит не только после однократных D_1 , но и после хронических, а также дробных лучевых воздействий, которые по суммарной величине адаптирующей дозы могут приближаться к соответствующим параметрам однократного облучения D_2 . При этом интервалы времени между D_1 и D_2 могут значительно варьировать в зависимости от условий эксперимента.

Обнаружено также, что не только ионизирующие излучения в малых дозах, но и другие физические или химические воздействия низкой интенсивности способны отсрочено вызывать повышение устойчивости биологических объектов к последующему, более сильному, экстремальному действию, т.е. можно говорить о существовании более общего феномена адаптивного ответа.

Все это еще раз подтверждает вывод о неспецифическом, стрессовом характере эффектов действия малых доз ионизирующих излучений.

Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации. Мембраны в механизме действия радиации в малых дозах. Эффект свидетеля

Вопрос о механизмах формирования и проявления вызываемых ими эффектов часто остается еще на уровне гипотез и предположений.

Эффект воздействия излучений в малых дозах нельзя оценивать путем простой экстраполяции экспериментальных данных, полученных при использовании больших повреждающих доз облучения. Синусоидальная зависимость эффектов при изменениях дозы облучения: *гиперрадиочувствительность* при облучении в *сверхмалых* дозах и *индуцированная радиорезистентность* (адаптивный ответ) при *возрастании* дозы; проявление стимуляции биологически важных процессов роста, развития, клеточного деления и других физиологических функций в период гормезиса, обратный эффект мощности доз уже одни только эти, наиболее изученные проявления биологического действия ионизирующих излучений в малых дозах свидетельствуют об их принципиальном отличии от эффектов, наблюдаемых после облучения в более высоких дозах.

Первичной мишенью действия радиации в малых дозах является не ДНК, а клеточные мембраны, и в этом состоит принципиальное отличие эффектов, вызываемых облучением в малых дозах по сравнению с большими.

Мембраны в механизме действия радиации в малых дозах

Наряду с традиционной генетической мишенью – ДНК – в радиобиологических исследованиях прочное место заняли и другие критические структуры – БМ.

Ионизирующие излучения «не выбирают» субстрат, их энергия поглощается всеми молекулами и структурами клетки, а дальнейшее развитие событий связано с первичным повреждением критических структур – радиобиологических мишеней, инициирующих в конечном счете нарушение клеточных функций вплоть до гибели клеток, клеточного опустошения, нарушения функций критических органов и тканей при облучении организма в конкретных диапазонах доз.

В отличие от воздействия в больших дозах, радиация в малых дозах не приводит к клеточному опустошению тканей. При облучении в малых дозах может происходить гибель только некоторой части популяции клеток. В подавляющем большинстве

клеток развиваются упомянутые эффекты, инициаторами которых являются изменения структуры и функций БМ.

«Эффект свидетеля» (*«bystander effect»*)

В последние годы ушедшего столетия начали появляться сообщения о способности клеток, подвергнутых воздействию ионизирующих излучений в малых дозах, секретировать в окружающую среду токсические вещества и передавать ими необлученным клеткам различные повреждения, в частности, признаки нестабильности генома. Этот эффект воздействия облученных клеток на необлученные получил в зарубежной литературе название «bystander effect. Он реализуется путем межклеточных контактов и секреции в межклеточные пространства активных веществ.

По-видимому, механизм секреции облученной клеткой активных веществ является одним из способов ее защиты от избытка эндогенных АФК (активных форм кислорода) и токсических липидных оксипродуктов, избавления от них при помощи регуляторного открытия пор БМ.

Как показали исследования последних лет, в состав секретируемых веществ могут входить не только АФК, но и другие биологически активные соединения (цитокины или иные факторы, способные повышать в необлученных клетках уровень АФК), белок p53 и др.

Удобным объектом для исследования подобных эффектов излучений в сверхмалых и малых дозах могут служить высоко радиочувствительные лимфоидные клетки – лимфоциты, дифференцирующиеся ооциты, сперматогонии В, кортикальные тимоциты и др.

Для лимфоидных, так же как и других клеток, обнаруживался характерный для облучения в сверхмалых и малых дозах обратный эффект мощности.

Не только химический состав микроокружения среды оказывает на клетку модифицирующий эффект, но и концентрация облученных клеток в среде: «чем больше концентрация клеток в облученной среде (до известного предела), тем сильнее лучевое поражение клеток».

Анализ феномена «межклеточного взаимодействия облученных клеток» позволил прийти к выводу о способности облученных клеток выделять медиаторы в

окружающую среду, изменяя тем самым химическое микроокружение клетки, влияющее на ход развития лучевого поражения. Используя метод ингибиторного анализа, удалось показать, что медиаторная роль в феномене межклеточного взаимодействия принадлежит окисленной полиненасыщенной жирной кислоте – арахидоновой, образующейся под действием фосфолипазы A_2 из фосфолипидов БМ и подвергающейся в последующем окислению липоксигеназой.

Как видно, «эффект свидетеля» и примеры «межклеточного или дистанционного взаимодействия» говорят об одном и том же феномене, только в первом утверждении речь идет о влиянии выделяемых облученной клеткой токсических медиаторов на облученную клетку, а во втором – и на необлученную.

На многоклеточных организмах одно из проявлений «эффекта свидетеля», связанное с образованием и медиаторным действием липидных и хиноидных радиотоксинов, лучевой токсический эффект последних давно хорошо изучено.

В *инициации* различных механизмов радиоадаптивного ответа клеток при облучении в малых дозах низкой интенсивности важную роль играют мембранные механизмы. В *реализации* этого ответа центральное место занимают каскады регуляторных реакций, активирующих транскрипционные факторы c-Jun/AP-1 и p53, благодаря которым при помощи механизмов апоптоза обеспечивается элиминация неспособной к восстановлению от повреждений высокочувствительной субпопуляции клеток и активация механизмов репарации ДНК в оставшейся части клеток, делающая их относительно резистентными к воздействию излучения в «разрешающей» дозе.

Использование ионизирующих излучений и радиоактивных изотопов в биологии и медицине.

Основной задачей использования ионизирующих излучений и радиоактивных изотопов в медицине является лучевая терапия опухолей. С позиций радиобиологии она может быть оптимально решена путем стерилизации раковой ткани, производимой без угрожающих жизни пациента повреждений окружающих

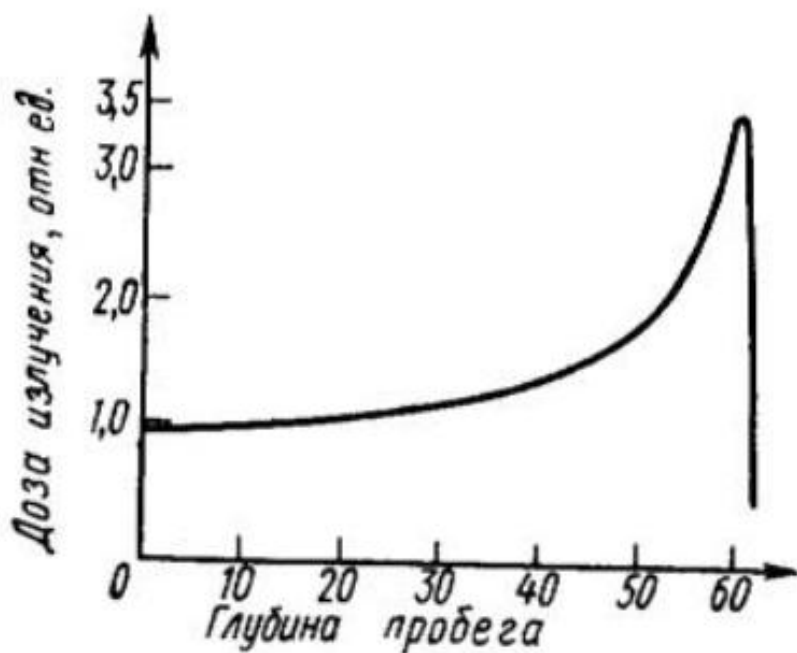
нормальных тканей. Лучевая терапия балансирует между двумя наиболее опасными последствиями: возможностью рецидива опухоли при недостаточной дозе излучения и тяжелым повреждением нормальных тканей при превышении этой дозы. Под стерилизацией опухоли понимают подавление способности составляющих ее клеток к неограниченному размножению. Для лечения опухолей применяют следующие виды тяжёлых ядерных частиц:

1. Протоны
2. Тяжёлые ионы
3. Отрицательные π -мезоны
4. Нейтроны

Заряженные ядерные частицы, ускоренные до больших скоростей в ускорителе, после определённого пробега в ткани тормозятся и теряют максимум энергии в конце пробега, образуя так называемый *пик Брэгга*.

Ниже на рисунке представлена *кривая Брэгга* (Увеличение поглощенной дозы в конце пробега протонов с энергией 100 МэВ).

Локализуя пик Брэгга в зоне опухоли, можно резко снизить лучевую нагрузку на окружающие ткани по ходу пучка и почти полностью исключить облучение тканей находящихся позади опухоли.



При радиотерапии опухолей необходимо учитывать ряд факторов:

1. Радиочувствительность клеток различных новообразований у человека, а также клеток опухолей одного гистогенеза у индивидуальных больных варьирует в широких пределах.

2. Фактором, значительно увеличивающим радиорезистентность опухолевых клеток, является гипоксия, возникающая вследствие дисбаланса в скоростях размножения клеток и роста сосудистой сети.

3. Для сенсibilизации гипоксических опухолевых клеток используют кислород, подаваемый больному во время сеанса лучевой терапии, а также электронакцепторные соединения, обладающие большей по сравнению с кислородом диффузией в отдаленные от капилляров зоны новообразований, так как в отличие от кислорода они не расходуются на метаболические процессы.

4. Для преодоления неблагоприятного действия опухолевой гипоксии разработан метод гипоксирadiотерапии, при котором избирательная защита нормальных тканей достигается переводом больных на дыхание смесями, содержащими 8–10% кислорода. Радиорезистентность нормальных тканей при этом повышается в большей мере, чем опухолей, уже исходно имеющих гипоксические радиорезистентные клетки. Гипертермия – нагрев (обычно в течение одного часа) опухоли до температуры в 41–43,5°C. Гипертермия сама по себе вызывает гибель части опухолевых клеток, а в сочетании с облучением (терморadiотерапия) резко усиливает их лучевое поражение.

5. Неполноценность опухолевой сосудистой сети уменьшает отвод тепла от опухоли по сравнению с находящимися в зоне прогрева нормальными тканями. Благодаря этому температура опухоли превышает температуру здоровых тканей на 1 – 1,5°C, что определяет избирательность противоопухолевого действия гипертермии.