Министерство образования Республики Беларусь

Учреждение образования
«Международный государственный экологический
университет им. А.Д. Сахарова»

Факультет экологической медицины

Кафедра биологии человека

Моссэ И.Б.

ЛЕКЦИИ
ПО РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКЕ

Минск
МГЭУ им. А.Д. Сахарова
2005

Автор:
доктор биологических наук, профессор Моссэ И.Б.

Моссэ И.Б. Лекции по радиационной генетике. Мн.: МГЭУ им. А.Д. Сахарова. 2005. 208 с.

© Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, 2005
© Моссе И.Б., 2005

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

Предмет радиационной генетики 5

История развития радиационной генетики..... 7

РАДИОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ ЭУКАРИОТ..... 11

Молекулярный уровень..... 11

Первичные повреждения, вызываемые в ДНК ионизирующей радиацией..... 11

Молекулярно-клеточный уровень 14

Особенности возникновения точковых мутаций 14

Клеточно-тканевой уровень..... 17

Особенности индукции облучением хромосомных аберраций..... 17

Общность происхождения хромосомных и точковых мутаций 28

Организменный уровень 31

Основные количественные зависимости индукции радиационных мутаций от дозы, вида и мощности излучений..... 31

Биологические проблемы радиационного риска..... 37

Радиационные риски 51

Оценка генетических рисков..... 72

Риски малых доз радиации 78

Адаптивный ответ..... 89

Байстендер эффект (bystander effect, эффект соседства)..... 94

Радиочувствительность с точки зрения генетики 107

Современные проблемы биодозиметрии..... 115

Трактовка термина «биодозиметрия»..... 115

Использование цитогенетических методов..... 116

Влияние химических веществ 116

Влияние адаптивного ответа..... 117

Возможна ли в принципе биологическая дозиметрия?..... 118

Популяционный уровень..... 119

Влияние ионизирующих излучений на популяции 119

Биологическая роль меланиновых пигментов..... 121

Методы генетического мониторинга облучаемых популяций... 124

Динамика численности особей *125*
Динамика плодовитости особей *129*
Динамика жизнеспособности особей *132*
Взаимосвязь элементов приспособленности *135*
Мониторинг мутационного груза: Анализ рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций *138*
Динамика видимых мутаций *143*
Динамика доминантных летальных мутаций *146*
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ К МУТАГЕННЫМ ФАКТОРАМ 152
Сравнение радиочувствительности популяций разных типов .. *152*
Сравнение чувствительности популяций разных типов к химическому мутагену ЭМС *156*
Механизмы адаптации популяций *159*
ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ 166
Влияние факторов среды на генетические эффекты радиации и проблемы защиты наследственности *166*
Серосодержащие радиопротекторы *170*
Амины *174*
Антибиотики *177*
Фенолы *181*
Вещества естественного происхождения *183*
МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ ОТ РАДИОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ... 185
Некоторые общие механизмы защиты *185*
Механизмы радиозащитного действия меланина *190*
Экспериментальное изучение механизмов антимутагенного действия меланина *194*
ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ 199
Облучение семян и растений с целью получения новых сортов *199*

ВВЕДЕНИЕ

Предмет радиационной генетики

Наш век характеризуется повышением фона искусственной радиации. Среди факторов такого повышения особое значение имеют источники ионизирующих излучений, которые неустранимы и влияют на биосферу всей Земли.

Атомная энергия становится фактором, оказывающим влияние на весь органический мир. В связи с развитием ядерной энергетики и других областей применения ионизирующих излучений возникает реальная опасность повышения радиоактивного фона биосферы, Это поставило перед биологией новую задачу, которую необходимо решить, а именно: каким образом радиация влияет на наследственность человека, животных, растений, микроорганизмов и вирусов.

Решить эту задачу должна новая область науки, получившая название радиационной генетики.

Радиационное поражение наследственного материала микроорганизмов, растений и животных в случае радиационных аварий может создать непоправимые в будущем ситуации, связанные с потерей наиболее чувствительных видов, обеднением видового состава сообществ.

Весь мир растений, животных, микроорганизмов и вирусов в какой-то мере уже вовлечен в новые формы эволюции, связанные с действием повышенного фона радиации. Как будет осуществляться эта эволюция? Каким образом можно направить эту эволюцию в желательную для нас сторону? Какие новые формы должна будет принять работа по улучшению культурных растений и сельскохозяйственных животных? Что дает использование радиации как нового метода создания ценных форм микроорганизмов, растений и животных? На все эти вопросы должна дать ответы радиационная генетика.

Воздействие излучений на человека особенно опасно, т.к. может привести к возрастанию генетических дефектов у потомков облученных людей. Изучение генетических последствий влияния ионизирующих излучений на людей стало сегодня одним из важнейших направлений исследований. Этому вопросу первостепенное внимание уделяет международное сообщество – Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН), Международная комиссия радиологической защиты (МКРЗ) и др. В каждой стране имеются свои Национальные комиссии радиологической защиты (НКРЗ

Все увеличивающееся использование атомной энергии в мирных целях, и, в частности, в медицине, делает неизбежным не только однократное, но и хроническое или периодическое облучение в малых дозах значительных групп населения, популяций. Еще большую угрозу представляет нерегулируемое повышение естественного фона радиации в результате радиоактивного загрязнения биосферы, вызванного испытанием ядерного оружия.

Это создает угрозу накопления в популяциях в виде «генетического груза» мутаций, отрицательно влияющих на жизнеспособность.

Кроме того повреждения ядерного аппарата клеток, связанные с нарушениями обмена нуклеиновых кислот, представляют собой один из важных элементов общего

лучевого поражения. Поражение генетических структур соматических клеток приводит к тяжелым последствиям, в частности к лейкемии и злокачественным новообразованиям.

Необходимо знать, каким образом малые и большие дозы радиации влияют на наследственность человека. Только располагая этими данными, можно дать прогноз о тех последствиях для человечества, которые наступят от влияния повышенного фона радиации. Этот прогноз является основой для разработки мер защиты наследственности от радиационной опасности.

Разработка проблем радиационной генетики неотделима от исследований по раскрытию природы химических и физических основ явления наследственности. Только после открытия молекулярных основ наследственности и их биологической специфики, связанной со структурной организацией и обменом веществ в клетке, вопрос о сущности действия радиации на наследственность получил твердую базу для своего развития.

Широкие горизонты открылись перед радиационной генетикой и в связи с созданием новой области науки – космической генетики,- начало которой положили полеты ряда биологических объектов на советских кораблях-спутниках. Еще большее значение приобрели эти вопросы с полетом человека в космос, который впервые был осуществлен 12 апреля 1961 г. советским космонавтом Юрием Гагариным.

Космические лучи содержат в себе компоненты в виде частиц с громадной энергией, биологическая активность которых еще неизвестна. Когда космические корабли полетят в дальние рейсы к Венере, Марсу и другим планетам, космонавты и сопутствующие им организмы встретят хотя и слабые по мощности, но длительно действующие ливни космических лучей.

Нельзя не указать и на то первостепенное значение, какое имеют исследования в области радиационной генетики для разработки методов защиты от космического излучения космонавтов и их потомства, а также тех организмов, которые будут входить в замкнутую экологическую систему космических кораблей, предназначенных для длительных полетов. Ведь мутации, возникающие у организмов, являющихся компонентами этой системы могли бы вызвать серьезные нарушения ее работы.

Таким образом, радиационная генетика должна дать оценку влияния радиации на наследственность человека и разработать методы для ее защиты, обеспечить безопасность наследственности человека и других организмов при дальних космических полетах, разработать новые методы создания ценных форм растений, микроорганизмов и животных, принять участие в разработке проблем организации форм жизни во Вселенной.

Для решения этих задач необходим глубокий теоретический анализ сущности процессов взаимодействия радиации с веществами, составляющими наследственные структуры, идущих на фоне всех процессов обмена веществ.

Изучение одних лишь указанных проблем имеет огромное теоретическое значение, ибо естественный радиационный фон Земли является одним из важнейших факторов естественного мутагенеза, создающего материал для действия естественного отбора, а следовательно, и для эволюции организмов.

Исследованиям в области радиационной генетики имеют также большое практическое значение для сельского хозяйства и промышленности. Применение ионизирующих (в первую очередь) и неионизирующих излучений для индукции мутаций в

практической селекции растений и микроорганизмов – задача первостепенного значения.

Более того, перед учеными стоит задача направленного получения мутаций. Если бы ее удалось решить (есть все основания полагать, что рано или поздно она будет решена), то эффективность селекции невероятно возросла бы. В этом направлении сделаны еще лишь самые первые шаги. Получено лишь первое представление о том какие типы мутаций возникают чаще под воздействием специфических излучений и как они зависят от величины и мощности дозы. Но уже одно то, что можно искусственно получать большое количество мутаций и в какой-то мере влиять на относительную частоту некоторых типов этих наследственных изменений позволяет выбирать из них полезные, обеспечивая успешное использование их в селекции.

Этот лишь вкратце очерченный круг важнейших проблем, стоящих перед радиогенетическими исследованиями, оправдывает признание радиационной генетики как самостоятельной науки, хотя и тесно связанной с цитологией, генетикой и радиобиологией.

История развития радиационной генетики

В 1896 г. Вильгельм Конрад Рентген описал свойства «Х-лучей» и продемонстрировал фотографию костей руки, сделанную с помощью открытого им излучения. Уже в этом же году было выполнено около тысячи работ, посвященных влиянию рентгеновского излучения на биологические объекты. Стало очевидно, что Х-лучами можно не только фотографировать, но и влиять на ход жизненных функций

1901 год приносит сообщения о выраженном действии на кожу лучей радия: лучевые ожоги кожи описали Анри Беккерель, первооткрыватель радиоактивности, Пъер Кюри и другие исследователи, работающие с радиоактивными материалами. Более грозные последствия облучения для человека выявились позднее, когда погибли многие техники, врачи и рентгенологи, систематически использовавшие ионизирующие излучения в терапевтических целях.

В 1903 г. Е.С.Лондон описал летальное действия лучей радия, которые убивали животных на расстоянии: мыши гибли через 4-10 дней после облучения. В 1904 г. Пертес обнаружил появление хромосомных аберраций при облучении делящихся клеток. Это были первые признаки генетического действия ионизирующей радиации.

В этот период делаются первые важные обобщения: французские исследователи Бергоньи и Трибондо на основании экспериментов с клетками, находящимися на разных стадиях дифференцировки, сформулировали в 1906 г. правило, согласно которому «ионизирующее излучение тем сильнее действует на клетки, чем интенсивнее они делятся и чем менее они дифференцированы».

Середина 20-х гг. ознаменовалась важнейшим открытием в радиационной генетике – было обнаружено мутагенное действие рентгеновских лучей. Пионерские работы в этом направлении были предприняты Н.К.Кольцовым с сотр. И Г.А.Надсоном. В 1920-1925 гг. были опубликованы работы Г.А.Надсона и Г.С.Филиппова по появлению новых стабильных рас у дрожжей, подвергнутых радиационному воздействию. В этих экспериментах впервые было показано появление мутаций под влиянием облучения. Однако генетика дрожжей в то время была мало разработана, и авторам не удалось привести строгих доказательств индуцированного мутагенеза.

В 1927 г. известный американский ученый Меллер на специально созданных линиях дрозофилы. представил неопровержимые доказательства того, что рентгенов-

ские лучи вызывают мутации. Эти открытия сыграли огромную роль в развитии генетики. Появилась возможность экспериментально получать наследственные изменения (мутации) у самых разнообразных организмов: простейших, низших и высших растений, насекомых, рыб и млекопитающих.

С открытием мутагенного действия излучений многие радиобиологи перешли к изучению единичной реакции дискретных биологических структур (генов, хромосом) на радиационное воздействие. Это позволило изучать типы мутаций, возникающих в ядерных структурах хромосом, и в частности непосредственно в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК

Стало возможным также изучать закономерности возникновения различных типов мутаций в зависимости от вида излучений, величины и мощности дозы, а также от ряда биологических факторов, таких, как радиочувствительность данного вида организмов и влияния, оказываемые на неё стадией гаметогенеза, полом и возрастом. Появилась возможность выявлять природу первичных механизмов действия радиации, изучать химические изменения, происходящие в молекулах хромосом.

В это же время значительно совершенствуются методы дозиметрии излучений, вводится единица дозы – рентген. Появляется возможность количественного анализа биологического действия излучений, основанного на выяснении зависимости между наблюдаемым биологическим эффектом и дозой радиации, поглощенной изучаемой системой.

По-видимому, этот период (конец 20-х гг.) следует считать датой рождения радиационной генетики.

Работами Дж. Кроутера, Д.Ли, Р.Циммера, Н.В.Тимофеева-Рессовского и В.И.Корогодина был введен в радиобиологию принцип попадания или теория мишени. Ещё 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 микролокальным нагревом, вследствие которого возникают глубокие структурные изменения и в конечном счете биологическое поражение. Вероятностный характер проявления эффекта у отдельных объектов автор гипотезы объяснял статистическим распределением «точечного тепла». В дальнейшем это предположение получило экспериментальное подтверждение в целом ряде работ вышеназванных генетиков.

Исследования этого периода оказали большое влияние на дальнейшее развитие радиационной генетики, превратили ее в одну из самых точных биологических дисциплин. Математический аппарат, развитый в этих работах, позволяет с достаточной надежностью судить о «пусковых событиях», приводящих к регистрируемым в эксперименте биологическим реакциям (мутации, гибель клетки и др.); оценивать параметры «мишени», ответственной за наблюдаемый эффект.

После взрыва первых атомных бомб, сброшенных США на Хиросиму и Нагасаки в 1945 г., появилась необходимость оценить влияние на наследственность организмов ионизирующих излучений, получаемых как непосредственно от источников излучения, так и от радиоактивных осадков, выпадающих на нашу планету после взрывов ядерных бомб. Стало ясно, что облучению подвергаются уже не отдельные особи, а целые популяции, Какими окажутся генетические эффекты при скрещивании облучённых особей?

Первые работы по генетике облученных популяций были выполнены Уоллесом. Опыты проводились с экспериментальными популяциями дрозофилы (D. melanogaster), обладающими высокой плодовитостью и очень коротким жизненным циклом –новое поколение появляется каждые 10 дней. Эти опыты дали начало развитию популяционной радиационной генетики.

Взрывы атомных бомб в атмосфере, а также дальнейшее развитие ядерной энергетики, использование изотопов в технике и медицине в той или иной мере приводят к повышению фона радиации на Земле. Поэтому необходимо было исследовать, каковы же возможности приспособления животных, растений, микроорганизмов и вирусов к повышению фона радиации. При этом один факт появления мутаций радиоустойчивости еще не достаточен. Необходимо, чтобы такие мутации вошли в новый интегрированный приспособительный генотип преобразованных популяций. Кроме того, действие излучений должно вызывать появление нового и, может быть, значительного генетического груза. Как же разные виды и разные популяции будут справляться с этими поражениями наследственных систем?

Анализ этих явлений должен быть вскрыт в исследованиях по радиационной генетике популяций.

Кроме того со всей остротой возникла необходимость поиска средств защиты не только самого облученного организма, но и его наследственных структур.

Интересные результаты были получены при анализе физико-химической природы процессов, происходящих в период между первичной абсорбцией энергии излучения и конечным биологическим эффектом. Было обнаружено зарождение в облучаемом растворе высокоактивных продуктов радиолиза воды – свободных радикалов, способных диффундировать на значительные расстояния и поражать биологические структуры. Эти исследования были выполнены в содружестве со специалистами в области радиационной физики и радиохимии.

Полученные данные позволили выдвинуть гипотезы о возможности ослабления лучевого поражения за счет введения в систему веществ – перехватчиков свободных радикалов, конкурирующих с биологическими структурами за продукты радиолиза воды. И действительно, В. Дейлу удалось снизить поражающее действие радиации на ферменты введением в раствор ряда веществ – перехватчиков радикалов. В 1948 г. был получен аналогичный защитный эффект в опытах с бактериофагами.

В 1949 г. была доказана способность ряда веществ защищать млекопитающих от лучевого поражения. Практическую важность этого открытия трудно переоценить: В опытах Х. Патта с соавторами введение цистеина за 10 мин до облучения защищало крыс от действия смертельной дозы радиации; З. Бак и А. Эрв обнаружили аналогичное действие цианида на мышах. Начинается интенсивный поиск эффективных радиозащитных препаратов во многих лабораториях мира.

Наблюдения, согласно которым многие эффективные радиозащитные препараты снижают содержание кислорода в тканях животных, стимулировали углубленные исследования роли молекулярного кислорода в лучевом поражении (работы Н. Н. Суворова, П. Г. Жеребченко, С. П. Ярмоненко в СССР; Л. Грея, Д. Кейтера, Х. Лангендорфа и других авторов за рубежом). Первоначально были высказаны гипотезы, связывающие защиту исключительно с инактивацией свободных радикалов и торможением свободнорадикальных окислительных процессов. Эти гипотезы находили хорошее подтверждение в модельных экспериментах на простых молекулярных системах.

Однако для сложных биологических систем такого объяснения было явно недостаточно.

Анализ многогранных физиологических и биохимических изменений, возникающих в тканях животных после введения радиозащитных соединений, привел в середине 60-х гг. З.Бака и П.Александера к формулировке гипотезы «биохимического шока», согласно которой различные радиопротекторы однотипно изменяют метаболические процессы, переводя клетки в состояние повышенной устойчивости к действию ионизирующей радиации. В дальнейшем появился ряд обширных исследований, посвященных анализу конкретных биохимических изменений, возникающих под влиянием радиозащитных агентов и способных изменять радиорезистентность организма. Появился ряд новых радиозащитных препаратов и ряд новых гипотез, объясняющих механизм их действия.

Развитие радиационной генетики в Беларуси связано с именем П.Ф.Рокицкого.

Академик П. Ф. Рокицкий принадлежит к плеяде выдающихся ученых страны. Он внес существенный вклад в становление и дальнейшее развитие не только радиационной генетики, но также общей и теоретической генетики, теории мутагенеза, теории отбора, теоретических основ селекционного процесса, биологической статистики. Широко известны его работы по вопросам философии, истории биологии и генетики в Советском Союзе.

С 1965г., когда в СССР признали ошибочность учения Т. Д. Лысенко и классическая генетика была реабилитирована, исследования по радиационной генетике получили более широкое развитие. Начинались эксперименты на дрозофиле, классическом объекте генетических исследований. В 1965г. Петр Фомич Рокицкий создал и возглавил в Институте генетики и цитологии АН БССР лабораторию теоретической (ныне радиационной) генетики, которой руководил до последних дней своей жизни.

В лаборатории развертываются работы по изучению индуцированного облучением мутационного процесса на организменном и популяционном уровнях, а также по поиску веществ, способных защищать наследственные структуры от мутагенного действия ионизирующих излучений.

В настоящее время эти исследования успешно продолжаются его учениками и последователями.

РАДИОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ ЭУКАРИОТ

Молекулярный уровень

Первичные повреждения, вызываемые в ДНК ионизирующей радиацией

Большинство механизмов повреждающего действия облучения на биомолекулы ДНК изучены в модельных экспериментах. Однако существующие литературные данные позволяют представить некоторую схему событий, происходящих в облученной ДНК.

На первом этапе облучения в хромосомной ДНК образуется сложный макрорадикал с двумя типами локализации неспаренных электронов, которым соответствуют повреждения оснований (потеря и химические модификации) и повреждения сахарофосфатных цепей (одиночные и двойные разрывы фосфодиэфирных и межуглеродных связей). Причем нуклеотидные основания повреждаются чаще, чем сахарофосфатная часть ДНК, примерно в 3 раза [Шальнов М.И.,1972г.,1973г.]. По данным работы [Шариатый В.А., 1972г.], 80-90% электронов и радикалов, образующихся при облучении, реагируют с азотистыми основаниями – самыми лабильными частями молекулы – и только 10-20% энергии расходуется на разложение сахарофосфатного фрагмента ДНК. Наиболее радиоустойчивыми являются углеродные связи, которые в 7,5 раза стабильнее, чем фосфодиэфирные. Из азотистых оснований большей радиочувствительностью обладают пиримидиновые, из которых самый лабильный тимин. Пуриновые основания в 2 раза устойчивее пиримидиновых.

Под действием ионизирующей радиации чаще повреждается одна нить ДНК. При этом образуются такие первичные повреждения, как дезаминирование оснований, алкилирование, возникновение оксимов цитозина, димеризация или гидратация пиримидиновых оснований и др. Вторичные реакции – это разрывы водородных связей, конфигурационные изменения надмолекулярных структур ДНК, а также внутри- и межмолекулярные сшивки полимерных цепей. Разрушение надмолекулярной структуры (деспирализация) обусловлено двойными разрывами ДНК, которые возникают, если одиночные разрывы нитей ДНК расположены на расстоянии не более 10 пар нуклеотидов друг от друга [Шальнов М.И., 1973г.].

Попадание кванта энергии при облучении клетки – процесс случайный, однако конечное повреждение образуется преимущественно в определенных участках хромосом, в так называемых „горячих точках”. Это явление можно

объяснить миграцией энергии или заряда вдоль хромосомы к наиболее „ранимым" местам. Существует миграция электронного возбуждения по молекуле ДНК на большие расстояния – 10^3-10^4 пар оснований [Шафрановская Н.И. и др., 1972г.]. Установлено, что если первоначально поражается наиболее радиоустойчивая компонента в смеси „фосфат-сахар" или в сахарофосфате, то, в конечном счете, свободная валентность локализуется на сахарной компоненте этой смеси [Шариатый В.А., 1972г.]. Далее миграция энергии или заряда идет в направлении наиболее легко возбуждаемых азотистых оснований, которые и являются преимущественными местами атаки электронов. С сахарным фрагментом ДНК электрон практически не реагирует, а лишь стабилизируется и за счет этого принимает участие в реакциях с азотистыми основаниями ДНК [Шарпатый В.А., 1972г.]. По данным работы [Gregoli S и др., 1972г.], образующийся под действием γ-облучения анион-радикал может возникать случайно на любом из четырех нуклеотидов, а затем неспаренный электрон передается на тот нуклеотид, который обладает наибольшим электронным сродством. После этого анион-радикал превращается в стабильный. Пиримидиновые основания как наиболее легко возбуждаемые и являются, по мнению авторов, точками приложения повреждающего действия радиации. С пуриновых же оснований сигнал ЭПР полностью снимается. Таким образом, независимо от места первоначального попадания кванта энергии первичные повреждения начинают формироваться на пиримидиновых нуклеотидах. Более того, миграция энергии и заряда возможна не только внутри молекулы ДНК, но и с ДНК на протектор. При введении, например, профлавина – лучшего, чем любой нуклеотид, акцептора электронов – конечное радиационное повреждение локализуется на профлавине. Если же ввести гистамин, который является худшим акцептором электронов, чем азотистые основания, то после γ-облучения сигнал передается, наоборот, от гистамина к нуклеотидам [Gregoli S и др., 1972г.].

Вещества-радиопротекторы могут захватывать на себя и электроны и возбуждение, чем вызывают снижение выхода радикалов ДНК [Шарпатый В.А., 1972г.]. Предполагается, что такой радиопротектор образует с ДНК комплекс, в котором возможна миграция заряда или возбуждения с ДНК на защитное вещество, а рекомбинация этого заряда с зарядом противоположного знака происходит на фрагменте протектора.

Таким образом, если квант энергии попадает на ДНК, необязательно последует ее повреждение: при наличии в клетке веществ-радиопротекторов возможна миграция энергии или заряда полностью или частично на протектор (рис. 1.1). Если такой миграции нет, то первичное радиационное повреждение локализуется на азотистых основаниях ДНК.

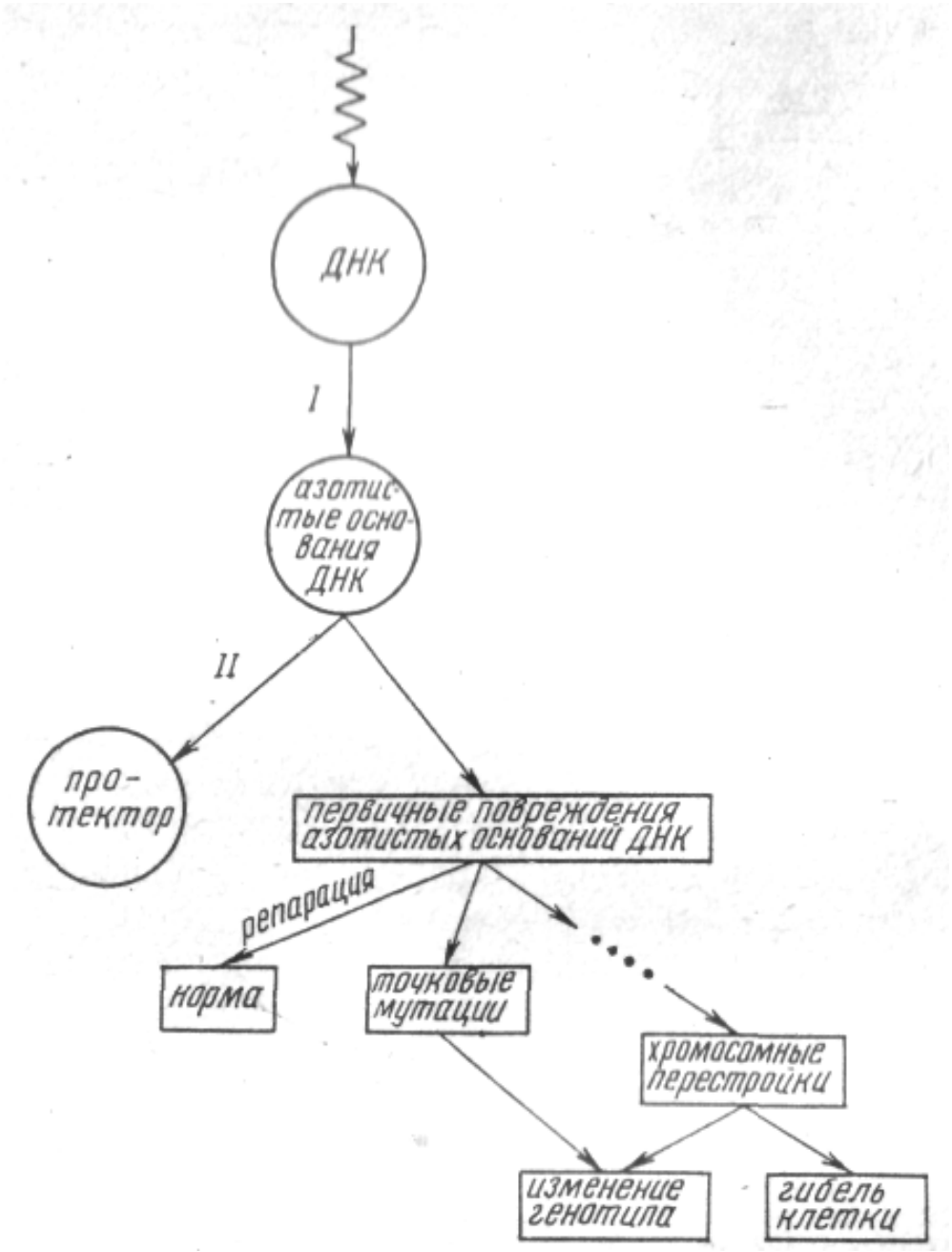


Рис. 1.1. Схема радиогенетических эффектов в клетке эукариот

Какова дальнейшая судьба этих повреждений? Во-первых, первичные повреждения могут быть репарированы; во-вторых, возможно образование точковых мутаций и, в-третьих, первичные радиационные повреждения нуклеотидов могут дать начало цепи событий, приводящих к формированию хромосомных аберраций (см. рис. 1.1).

Поскольку репарация радиационных повреждений ДНК описана во многих работах, остановимся на вопросах образования точковых и хромосомных мутаций.

Молекулярно-клеточный уровень

Особенности возникновения точковых мутаций

Термин „точковая мутация” долгое время понимался разными исследователями по-разному, поэтому следует уточнить, что согласно современным представлениям точковыми мутациями мы называем стабильные изменения на уровне нуклеотидов ДНК. При образовании точковой мутации не нарушается целостность хромосомы и не затрагивается ее белковый компонент.

Предположение о разной зависимости выхода точковых и хромосомных мутаций от эффективности репарационных систем было высказано нами в 1974г. [Моссэ И.Б., 1974г.] и подтверждено работами последних лет.

Данные, свидетельствующие о независимости или слабой зависимости формирования точковых мутаций от интенсивности процессов репарации, получены при исследовании различных факторов.

Радиочувствительность стадий гаметогенеза. В радиобиологии существует установившееся мнение о том, что радиочувствительность разных стадий гаметогенеза различна. Такое явление объясняется разной эффективностью репарационных процессов на разных стадиях. Однако это положение верно лишь для мутаций аберрантного происхождения. Что же касается точковых мутаций, то по этому типу повреждений радиочувствительность разных стадий, как сперматогенеза, так и овогенеза оказывается одинаковой. Так, Лефевр [Lefevre G.J., 1967г.] не обнаружил никаких различий в радиочувствительности постмейотических половых клеток дрозофилы по тесту точковых мутаций и пришел к выводу, что радиочувствительность спермиев и сперматид по точковым мутациям одинакова. Наряду с этим выход транслокаций в сперматидах больше, чем в спермиях, в 11,6 раза, а рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций (смесь хромосомных и точковых) – в 3,7 раза [Ives P.T., 1963г.] (рис. 1.2).

Группа японских исследователей при изучении на дрозофиле мутаций dumpy точкового и хромосомного происхождения неоднократно отмечала разницу в изменении частот этих типов мутаций при различных воздействиях. Так, в работах [Inagaki E.и др.,1974г.,1977г., Miyamoto T. и др., 1981г.] показано, что при облучении выход мутаций dumpy точкового происхождения одинаков на разных стадиях сперматогенеза у дрозофилы, в то время как индукция мутаций dumpy хромосомной природы различается.

Не обнаружено различий между зрелыми и незрелыми ооцитами по чувствительности к индукции облучением мутаций dumpy точковой природы [Fujikawa K., 1980г.]. Установлено, что вариации в общей частоте мутаций на протяжении овогенеза обусловлены мутациями аберрантного происхождения, тогда как выход точковых мутаций мало зависит от фазы овогенеза [Miyamoto T., и др., 1978г.]. Эти данные полностью согласуются с данными, полученными

в работе [Valencia R.M. и др., 1961г.] при исследовании индукции мутаций в 10 специфических локусах половой хромосомы в ооцитах и овогониях дрозофилы.

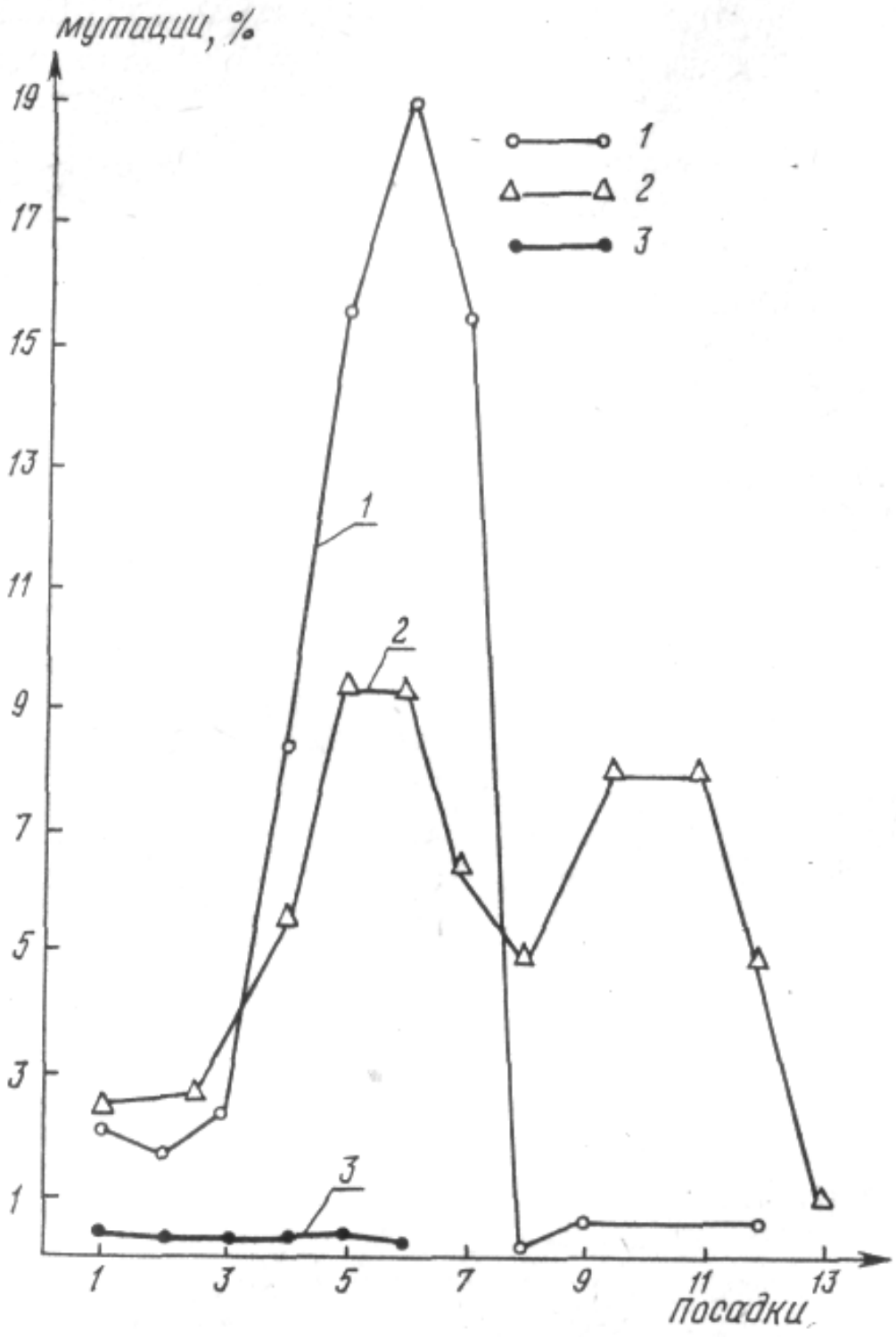


Рис. 1.2. Характер выхода различных типов мутаций, индуцированных облучением: 1 – частота транслокаций [8]; 2 – частота рецессивных летальных мутаций [8]; 3 – частота мутаций при цитологически нормальных хромосомах [7]

Таким образом, по тесту точковых мутаций спермии имеют практически одинаковую радиочувствительность со сперматидами, а овогонии с ооцитами,

несмотря на огромную разницу в метаболизме и эффективности репарационных процессов в этих клетках.

Радиочувствительность разных линий. При изучении разных линий дрозофилы, отличающихся по своей радиочувствительности, показано, что выход точковых мутаций одинаков, а различия обусловлены лишь неодинаковой индукцией хромосомных аберраций [Александров И.Д., 1976г.].

Кислородный эффект. Известно, что кислород, присутствующий во время облучения, подавляет работу репарационных систем [Ауэрбах Ш., 1978г.]. При отсутствии кислородного влияния на выход хромосомных перестроек у линий дрозофилы, дефектных по эксцизионной и репликационной репарации, кислородный эффект является модификацией способности к репарации [Binz P.и др., 1981г.].

Модификация кислородом частоты радиационных мутаций показана лишь для хромосомных аберраций, а индукция облучением точковых мутаций не изменяется при воздействии кислородом или азотом. Например, по данным работы [Sobels F.H., 1963г.], обработка половых клеток дрозофилы азотом после облучения в кислороде повышает частоту транслокаций в этих клетках, но не изменяет выхода точковых мутаций (рецессивные летальные мутации в кольцевой Х-хромосоме). Аналогично воздействие кислородом после облучения в азоте уменьшает выход аберраций хромосом, но не влияет на индукцию точковых мутаций [Miyamoto T. и др., 1978г., Miyamoto T., 1982г.]. При этом если выход одиночных и двойных разрывов при облучении в воздухе, азоте и кислороде различается существенно, то данные по изменению выхода поврежденных оснований при облучении в кислороде отсутствуют [Ferro W., 1983г.].

Выдерживание в кислороде после облучения в азоте способствует репарации повреждений в сперматидах дрозофилы, при этом уменьшается выход индуцированных облучением аберраций, но частота генных мутаций в специфических локусах половой хромосомы и аутосомы II не изменяется [Inagaki E.и др., 1972г.].

Влияние мощности дозы. Выход видимых мутаций и мутаций dumpy у дрозофилы изучался при облучении γ -лучами с разной мощностью дозы – 3000 и 30 рад/мин (Единицы измерений доз облучения в цитируемых работах нами не переведены в единицы СИ, так как не указано, являются ли эти дозы экспозиционными или поглощенными.) [Fujikawa K.,1981г., Fujikawa K.и др., 1979г.]. Оказалось, что частота мутаций аберрантной природы была значительно ниже при малой мощности дозы, чем при высокой, но выход точковых мутаций остался одинаковым при уровнях мощностей дозы, различающихся в 100 раз. Таким образом, индукция точковых мутаций не зависит от мощности дозы облучения.

Влияние типа излучения. Репарация повреждений, индуцированных нейтронным облучением, не обнаружена. Такие повреждения либо вовсе не репарируются, либо репарируются с большим трудом. При изучении выхода мутации dumpy у дрозофилы установлено, что ОБЭ нейтронов по сравнению с рентгеновским излучением в 2 раза выше для мутаций хромосомной природы, чем

для точковых [Fujikawa K.и др., 1979г.]. Аналогичные данные получены и в работе [Александров И.Д., 1984г.].

Влияние ЭМС. Известно, что ЭМС вызывает преимущественно генные мутации. Выход генных мутаций у дрозофилы под влиянием ЭМС не модифицируется даже кофеином [Бондаренко Л.В. и др., 1982г.]. Показано также, что в клетках китайского хомячка повреждения, индуцированные ЭМС, необратимы и приводят к индукции и экспрессии мутаций в отсутствие синтеза ДНК [O′Neill P.J., 1982г.]. Частота генных мутаций в локусе HPRT в клетках китайского хомячка, индуцированных этилнитрозомочевиной, не изменяется в разных послеэкспозиционных условиях, в которых снижается частота СХО [Stetka D.G. и др., 1982г.]. Авторы данной работы пришли к выводу, что повреждения, ведущие к СХО, в отличие от нерепарируемых „мутагенных" изменений репарируются.

Влияние гена, нарушающего рекомбинацию. При исследовании влияния γ-лучей на индукцию мутаций у дефектной по рекомбинации линии дрозофилы c3G было выявлено [Miyamoto T., 1983г.], что частота точковых мутаций в сперматоцитах мутантной и дикой линий одинакова, а индукция гиперплоидных самцов различна. Автор предполагает, что c3G ген включается в процесс индукции ионизирующей радиацией больших структурных изменений и не связан с индукцией генных мутаций.

Для всех приведенных фактов возможно лишь одно объяснение – отсутствие влияния вообще или слабое влияние репарационных систем на выход точковых мутаций.

Клеточно-тканевой уровень

Особенности индукции облучением хромосомных аберраций

В отличие от точковых мутаций индукция хромосомных аберраций не только эффективно изменяется под воздействием физических и химических модификаторов, но и зависит от многих факторов, зачастую не контролируемых экспериментатором. Рассмотрим основные из них.

Известно, что разные виды живых существ обладают различной радиочувствительностью. Известно также, что разные стадии и гаметогенеза, и клеточного цикла тоже обладают различной радиочувствительностью. Однако нельзя говорить о радиочувствительности вообще, так как общая радиочувствительность, определяемая по летальной или полулеталыюй дозе, не всегда коррелирует с цитогенетической радиочувствительностью разных органов, тканей и клеток, между которыми часто отсутствует корреляция по индукции хромосомных аберраций. При определении генетической радиочувствительности с помощью разных тестов можно получить противоположные результаты, так как

разные стадии клеточного цикла и гаметогенеза, а также линии животных с разным генотипом и т. д. различаются по радиочувствительности, выявляемой по тесту хромосомных аберраций, но имеют одинаковую радиочувствительность по тесту точковых мутаций. Чтобы избежать получения противоречивых данных, надо учитывать специфику каждого используемого теста, а также разнообразные факторы, изменяющие или искажающие результаты оценки кластогенного действия ионизирующей радиации (равно, как и любых других мутагенов).

Генотип. Индукция облучением хромосомных перестроек существенно отличается у особей разных генотипов. Так, например, у гибридных мышей (C_3H X 101) F_1 при облучении возникает более высокая частота врожденных аномалий и реципрокных транслокаций по сравнению с гибридами (SFC X C57BL) F_1 [Rutledge J.C. и др., 1986г.]. Аналогичные данные получены и при исследовании других линий мышей [Bishop J.B. и др., 1981г.].

У мышей конгенных линий выявлены группы с высокой и низкой частотой возникновения хромосомных аберраций [Miyashita N. и др.,1987г.].

Межлинейные различия радиочувствительности ряд авторов связывает с неодинаковой эффективностью репарационных процессов у разных линий. В частности, различная степень восстановления ДНК в клетках млекопитающих разных линий оказалась ответственной за различия в их радиочувствительности [Miyashita N. и др.,1987г., Fujiwara Y., 1977г.].

Известно, что радиочувствительность клеток зависит от плоидности. Например, повышенная радиочувствительность мутанта дрожжей rad 51 обнаружена лишь у диплоидов, а аналогичный гаплоидный мутант обладает такой же устойчивостью к радиации, что и дрожжи дикого типа [Петин В.Г., 1978г.]. Такие же результаты получены японскими исследователями, при изучении мутанта дрожжей rad 52 [Hakau C. и др., 1978г.].

На цитогенетическую радиочувствительность клеток влияют даже небольшие изменения генотипа. Так, показано, что частота аберраций, индуцируемых в культивируемых фибробластах человека, значительно выше в клетках с трисомией хромосом по сравнению с диплоидными клетками [Waller H. и др., 1986г.], а частота транслокаций в клетках мышей с нормальным кариотипом оказалась выше, чем у мышей, гетерозиготных по транслокации [Buul P.P.W. van и др., 1980г.].

При этом межлинейные различия по цитогенетической радиочувствительности могут не коррелировать с общей радиочувствительностью. Так, мыши линии 101/Н оказались гораздо более чувствительными в отношении вызываемой рентгеновским излучением гибели сперматогониальных клеток, чем гибриды (СЗН/НеН X 101/Н)Р], но в то же время уровень транслокаций у мышей 101/Н оказался существенно ниже [Cattanach B.M. и др., 1978г.].

Тканевая специфичность. Сравнение радиочувствительности по тесту хромосомных перестроек затрудняется тем, что нет корреляции между различной частотой аберраций у разных линий и в клетках разных тканей животных, т. е. линия, более чувствительная к индукции перестроек в каких-то соматических клетках, оказывается устойчивой к индукции аберраций в половых клет-

ках, и наоборот [Medle E. и др., 1986г.]. Так, в работе [Домарева О.П. и др., 1973г.] показано, что относительная радиочувствительность мышей четырех генотипов, определяемая по выходу хромосомных перестроек в сперматоцитах, обратна таковой в клетках роговицы глаза.

По данным работы [Buul P.P.W. van., 1973г.], при рентгенооблучении мышей в дозе 400 рад в костном мозге возникает в 4,2 раза больше аберраций, чем в сперматоцитах. Предполагалось, что причинами этого различия являются разные методы определения хромосомных перестроек в указанных тканях, а также неодинаковая элиминация и пролиферация клеток, несущих аберрации, в пострадиационный период. В ней указывалось на отсутствие корреляции между чувствительностью этих тканей по тесту хромосомных аберраций и по клеточной гибели, что приводит к выживанию клеток с перестройками в разных тканях [Buul P.P.W. van., 1973г]. Сравнительное изучение хромосомной радиочувствительности лимфоцитов крови и сперматогониальных клеток у мыши и макаки-резуса было продолжено в работе [Waller H. и др., 1986г.]. Полученные результаты позволили сделать вывод об отсутствии фиксированного соотношения между частотой индуцированных радиацией аберраций в соматических и половых клетках. Поэтому авторы считают, что при определении степени генетического риска воздействия облучения на человека решающую роль должна играть прямая оценка частоты мутаций в половых клетках [Waller H. и др., 1986г.].

Сравнение радиочувствительности лейкоцитов периферической крови и сперматогониальных клеток у мышей и китайского хомячка показало, что частота хромосомных обменов, индуцированных радиацией в половых клетках, ниже, чем в лейкоцитах [Brewen J.G. и др., 1973г.]. Обнаружено также [Домарева О.П. и др., 1973г.], что частота аберраций, вызываемая облучением в роговице глаза, больше, а в печени меньше, чем в половых клетках.

Кроме причин, обусловливающих разную индукцию аберраций в разных тканях организма, большую роль играют и различия в эффективности репарационных систем. Показано, например, что в клетках млекопитающих репарационные энзимы обладают неодинаковой активностью в тканях разных органов [Margison S.P. и др., 1976г.].

Возраст и пол. Известно, что цитогенетическая радиочувствительность увеличивается по мере старения организма. Однако влияние возраста на индукцию мутаций не всегда однозначно. Так, уровень реципрокных транслокаций и фрагментов хромосом у мышей значительно возрастает с увеличением возраста от 75 до 850 дней, а частота гипергаплоидных и анеуплоидных клеток не изменяется [Pacchierotti F. и др., 1984г.].

У старых облученных самок мыши частота аберраций в 3 раза выше, чем у молодых. Интересно, что при этом играет роль репродуктивный статус самок – после облучения старых девственных самок они давали помет меньшего размера, чем повторнородящие самки того же возраста [Searle A.G. и др., 1985г.].

Возрастные различия в повреждаемости хромосом выявлены и для культивируемых клеток человека [Waller H. и др., 1986г, Виленчик М.М. и др., 1980г.], и для клеток печени плода мышей [Harper B.L. и др., 1987г.].

Увеличение частоты индуцированных мутаций при старении можно объяснить нарушением репарационных процессов. Эффективность систем восстановления весьма лабильна, она различна в клетках с разным уровнем метаболизма и может быть подвержена воздействию самых разнообразных факторов, с которыми соприкасается организм в течение жизни. Эффективность систем репарации изменяется с возрастом, а также имеет видовую, органную и тканевую специфичность [Lohman P.H.M.и др., 1987г.].

Хорошо известны и различия в работе репарационных систем у особей разного пола. Например, в сперматозоидах дрозофилы ферменты репарации отсутствуют, а повреждения, возникающие в этих клетках, репарируются после оплодотворения за счет репарационных ферментов самки. Однако различный выход структурных мутаций в клетках у особей разного пола может определяться и разной чувствительностью этих клеток к облучению [Guzman J.R. и др., 1987г., Battu K.B., 1984г.].

Специфика стадий клеточного цикла и гаметогенеза. Радиочувствительность разных стадий клеточного цикла по тесту хромосомных перестроек неодинакова [Okada S. и др., 1977г.], что обусловлено не различной чувствительностью самого генетического материала, а разной эффективностью репарационных процессов на этих стадиях.

Еще в 1975 г. Н. В. Лучник писал, что на всех стадиях цикла мишень имеет одну и ту же природу. Радиация вызывает одно и то же или примерно одно и то же число потенциальных повреждений, и природа этих повреждений также одна и та же. На всех стадиях клеточного цикла одинакова и возможность репарации [Luchnik N.V. и др., 1975г.].

Аналогичные выводы сделаны и в ряде других работ [Ганасси Е.Э., 1976г., Заичкина С.И. и др., 1981г.], в которых отмечается, что различия в выходе структурных повреждений хромосом обусловлены разным вкладом репарации [Ганасси Е.Э., 1976г.].

Однако, кроме различий в эффективности репарационных процессов, протекающих на разных стадиях клеточного цикла, на индукцию облучением хромосомных перестроек может влиять длительность протекания одной и той же стадии. Так, при сравнении радиочувствительности нейробластов двух линий кобылок, имеющих периоды клеточных циклов 2 и 4 ч, было показано, что значительно большее число фрагментов хромосом возникает в клетках с четырехчасовым циклом [Gaulden M.E. и др., 1984г.]. Авторы связывают это явление с тем, что при данной дозе облучения начальное индуцирование у клеток с четырехчасовым циклом больше, чем у клеток с двухчасовым циклом, хотя кривые митотического восстановления одинаковы у обеих линий.

Хорошо известна различная радиочувствительность по тесту хромосомных перестроек разных стадий гаметогенеза. Одной из причин этого явления служит большая степень селекции предмейотических клеток с нарушением хромосом по сравнению с постмейотическими [Померанцева М.Д., 1987г.]. Что же касается последних, то, безусловно, главную роль в изменении выхода структурных мутаций играют различия в эффективности репарационных процессов, протекающих в клетках разной степени зрелости. В экспериментах с че-

тырьмя линиями дрозофилы, в том числе с нарушенными системами репарации ДНК, изучалась чувствительность разных стадий оогенеза к рентгеновскому излучению и экспериментально показано, что работа систем репарации ДНК стадиеспецифична [Тихомирова М.М., 1984г.].

Поскольку стадии клеточного цикла и гаметогенеза имеют неодинаковую радиочувствительность по тесту перестроек хромосом, то при обработке клеток необходимо учитывать, не вызывает ли применяемый агент сдвиг стадий.

Многие физические и химические факторы вызывают изменения в скорости митотического цикла, при этом разные клетки вступают в метафазу в разное время после обработки. Это приводит к тому, что сравниваются метафазы клеток, прошедшие разное количество делений и имеющие разную частоту аберраций, так как частота аберраций уменьшается с каждым последующим делением. Например, при обработке лимфоцитов мутагеном и протектором с помощью метода „арлекиновой" окраски хромосом установлено, что при фиксации лимфоцитов через 54 ч от начала культивирования лишь 25,5 % клеток находятся в первом митозе, а 73,5 % – во втором [Wolff J. и др., 1979г.]. При этом протектор не влиял на частоту аберраций, индуцированных в клетках первого митоза, но уменьшал число аберрантных клеток, вступивших во второй митоз, деление которых протекает быстрее. Эксперименты с ^{3}Н-тимидином показали, что часть клеток второго митоза во время добавления мутагена находилась в C_2-стадии клеточного цикла, а следовательно, снижение частоты аберраций при действии протектора перед добавлением мутагена может быть артефактом клеточной селекции [Wolff J. и др., 1979г].

Таким же артефактом оказался кажущийся синергизм дальнего красного света и рентгеновского излучения [Volff S. и др., 1965г.]. Красный свет замедлял протекание клеточного цикла, и после обработки им действие рентгеновских лучей приходилось на клетки, оказавшиеся в самой чувствительной стадии.

Установлено, что введение в организм или культуральную среду ^{3}Н-тимидина приводит не только к задержке вступления клетки в митоз, но и перескакиванию из G_2-фазы в G_1 или G_0 следующего митоза, к уменьшению периода деления клетки, гибели клеток, индукции хромосомных перестроек и т. д. [Козлов А.А. и др., 1980г.]. Все это может привести к самым неожиданным и противоречивым результатам при исследовании выхода структурных мутаций под действием ионизирующей радиации (равно, как и любого другого мутагена), и особенно при изучении совместного действия двух и более факторов.

Размер (дифференцировка) клетки. Существует две субпопуляции лимфоцитов – большие и малые. Лимфоциты большого размера устойчивы к облучению, а малые чувствительны. В процессе дифференцировки лимфоциты в значительной степени утрачивают способность к эксцизионной репарации. Обусловлено это тем, что при дифференцировке клетки возрастает спирализация и плотность упаковки ДНК, что препятствует доступу ферментов репарации к месту повреждения. При обработке клеток ФГА, который обычно используется при культивировании лимфоцитов, происходит дедифференцировка клеток, вследствие чего возрастает и их устойчивость к облучению [Филиппович

И.В. и др., 1983г.]. Лимфоциты людей, больных красной волчанкой, теряют свою суперспирализацию, и поэтому в них лучше репарируются повреждения, ведущие к хромосомным перестройкам или гибели клеток. Все это приводит к различному выходу аберраций хромосом при тестировании кластогенного действия мутагенных факторов.

Диаметр и специфичность хромосомы. Радиочувствительность клеток, как оказалось, зависит и от диаметра хромосом пронуклеуса. Такой вывод был сделан на основании изучения двух популяций комаров, одна из которых обитает в Альпах, а другая – в Берлине. Частота перестроек у этих популяций различалась в 10-20 раз и коррелировала с числом витков в хромосомной спирали [Izraelewski N., 1979г.]. По мнению автора, повышенная радиочувствительность клеток с большим числом витков в хромосомной спирали объясняется тем, что каждый виток является единицей внутри- и межхромосомных контактов, ведущих к возникновению аберраций хромосом. Нам представляется возможным и другое объяснение: чем более спирализована ДНК (большее число витков), тем труднее осуществляется репарация потенциальных повреждений и выше выход структурных мутаций. Интересно, что по общей радиочувствительности эти популяции различались в 1,5 раза, что свидетельствует об отсутствии корреляции между общей и цитогенетической радиочувствительностью.

На индукцию хромосомных перестроек влияет не только величина диаметра хромосом, но и другие характеристики.

Существует мнение, что частота образования структурных мутаций в хромосомах пропорциональна их длине. Действительно, чем хромосома длиннее, тем вероятнее в ней и возникновение первичных повреждений, и формирование хромосомных перестроек. Однако обнаружено [Caspersson T. и др., 1979г.], что в разных парах хромосом частота образования аберраций различается и при этом не соответствует длине хромосомы.

К такому же выводу пришли и японские исследователи [Hayata I. и др., 1985г.] при изучении с помощью Q- и R-окрашивания хромосомных перестроек, возникающих в костном мозге крыс и мышей после V-облучения. Они показали, что частота аберраций в индивидуальных хромосомах распределена не случайным образом. Были выделены более ранимые и более резистентные хромосомы, причем было установлено, что эти показатели не коррелируют с длиной хромосом. Особенно интересно, что среди чаще всего поражаемых хромосом мыши и крысы три пары оказались гомеологичными [Hayata I. и др., 1985г].

К выводу о неравномерности распределения хромосомных повреждений во фракциях метафазных хромосом, различающихся по размеру, пришли и другие авторы [Горин А.И. и др., 1986г.].

Чувствительность участков внутри хромосомы. Все исследователи, изучавшие локализацию индуцированных хромосомных перестроек, отмечали неравномерность распределения разрывов по длине хромосомы. Это явление обычно связывают с распределением эу- и гетерохроматина, структурная организация и биохимическая дифференциация которых различны [Прокофьева-Бельговская А.А., 1960г., 1971г.]. Показано, что при различных воздействиях (ионизирующая радиация, химические вещества, температурная обработка) по-

вреждения хромосом локализуются преимущественно в гетерохроматиновых районах хромосомы [Прокофьева-Бельговская А.А., 1960г, 1986г., Kodani M., 1941г., Христолюбова Н.Б., 1961г., Елисеева К.Г. и др., 1973г.]. Однако, несмотря на то, что аберрации хромосом в большей степени локализованы в гетерохроматиновых участках или на стыках гетеро- и эухроматина, эухроматин сильнее подвержен прямому действию повреждающих агентов (ионизирующая радиация, канцерогенные химические соединения, ДНКаза I и т. д.) [Горин А.И. и др., 1986г.]. Такое противоречие может быть связано с тем, что относительное количество первичных повреждений существенно выше в эухроматине, чем в гетерохроматиновых участках, но в последних затруднены процессы репарации [Горин А.И. и др., 1986г.].

Кроме того, были установлены и причины неравномерного распределения аберраций по длине хромосом. Так, в работе [Schubert I., 1985г.] отмечено, что «горячие» точки у многих видов выявляются в позднореплицирующемся гетерохроматине. На распределение хромосомных перестроек влияют также: 1) тип используемого мутагена; 2) относительное положение участка внутри кариотипа; 3) наличие структурных перестроек хромосом до воздействия; 4) число потенциальных „горячих” сегментов на хромосому и т. д.

Используя предложенную Касперсоном окраску акрихин-ипритом, с помощью флуоресцентного микроскопа Холмберг [Holmberg M. и др., 1973г.] установил, что разрывы хромосом лимфоцитов человека под действием облучения возникают преимущественно в К-областях хромосом и частота разрывов в каждой хромосоме пропорциональна длине этих участков. При этом оказалось, что структурные изменения хромосом не затрагивают С-областей [Горин А.И. и др., 1986г.].

Интересно, что существуют отдельные особенно „ломкие” участки хромосом, причем они специфичны для разных генотипов. Например, при изучении двух инбредных генетически чистых линий мышей для одной из них были обнаружены 3 „ломких” участка (12А2,15А2,19А2), а для другой – один (19В). Частота клеток с „ломкими” участками 15А2 и 19В увеличивалась при добавлении ФУДР [Sanz M. и др., 1984г.]. Существует мнение, что разрывы хромосом происходят в результате не только специфического биохимического действия мутагена, но и биофизических или физико-химических напряжений [Manna G.K., 1975г.].

Сроки воздействия и фиксации. Результаты определения уровня хромосомных перестроек в соматических клетках существенно искажаются при длительном воздействии мутагенных факторов. Одной из причин этого является элиминация короткоживущих клеток, вместе с которыми элиминируются и перестройки. Тем более что вероятность гибели клеток с повреждениями выше, чем нормальных. Вторая причина – это гетерогенность клеток по чувствительности к мутагенам. Так, отмечено [Леонард А., 1986г.], что популяции лимфоцитов обладают разной чувствительностью, причем чувствительная субпопуляция активно элиминируется и приводит к снижению клеток с хромосомными нарушениями. При длительных воздействиях мутагенных агентов происходит адаптация популяций к этим мутагенам. Популяции становятся более рези-

стентными, что также приводит к существенному занижению результатов оценки генетической опасности мутагенных факторов по сравнению с результатами исследования однократных мутагенных воздействий.

Необходимо учитывать и тот факт, что с увеличением сроков культивирования клеток в них нарастает асинхронизация. Так, даже в синхронизированной культуре лимфоцитов человека уже через 5 ч культивирования появляются клетки второго деления [Леонард А., 1986г.], через 48 ч образуется смесь клеток двух делений, а через 80 ч – пяти делений [Сапачева В.А. 1986г.].

При облучении гепаринизированной цельной крови индийских мунтжаков через 48 ч культивирования обнаружена разная частота хромосомных аберраций в метафазах 1,2 и 3-го митозов [Das B.C. и др., 1987г.]. Автором установлено, что 50 % дицентриков и 12% колец переносится из первого цикла во второй. В первом цикле после облучения в дозе 4 Гр было найдено 94 % аномальных клеток, а во втором – 73 %. После третьего цикла частота хромосомных нарушений существенно снижается [Das B.C. и др., 1987г]. Эти данные неоспоримо свидетельствуют о том, что нельзя изучать количественные закономерности индуцирования цитогенетических повреждений в клетке без идентификации первого и последующих клеточных делений.

Роль условий проведения опытов. На результаты цитогенетических исследований могут оказывать влияние условия проведения опыта. Например, в лимфоцитах периферической крови человека был обнаружен „эффект хранения” [Evans H.J. и др., 1980г.]. Для изучения его влияния на частоту аберраций хромосом были проведены исследования в двух вариантах. В первом варианте обработанные мутагеном лимфоциты стимулировали к делению с помощью ФГА и БДУ в течение 0-9 дней, а во втором варианте опытов ФГА и БДУ добавляли в культуру клеток сразу же после обработки мутагеном. Оказалось, что в обоих вариантах опытов частота хромосомных перестроек хроматидного и хромосомного типа интенсивно увеличивалась вплоть до последнего срока культивирования, в то время как частота СХО возрастала постепенно, достигая максимума на 6-й день, а затем начинала снижаться. Установлено, что на частоту аберраций в лимфоцитах влияют не только сроки хранения, но и температура хранения и посуда, в которой хранилась кровь перед облучением [Ivanov В.А., 1979г.]. Так, в клетках крови, хранившейся при t = 5°С в течение 173ч в пластиковых сосудах, после облучения частота аберрантных клеток была в 2 раза больше, чем в лимфоцитах свежей крови. Статистически значимое увеличение уровня хромосомных перестроек наблюдалось и при хранении крови до облучения в течение 24, 48 и 72 ч при t = 5 , 20 и 37 °С. Однако хранение крови в течение 48 ч при t = 20 °С в стеклянных сосудах не повышало частоты аберраций по сравнению со свежей кровью. Был сделан вывод о сенсибилизирующем действии пластмассы на наследственные структуры лимфоцитов [Ivanov В.А., 1979г.].

Возможны и другие артефакты, влияющие на результаты генетических исследований. Так, в работе [Mitchell I.G., 1987г.] указывается, что размер проб, количество повторностей, выбор метода статистической обработки данных, а также экспериментальные артефакты и случайные ошибки могут быть причи-

нами противоречивости данных, получаемых в разных лабораториях при исследовании одного и того же генотоксического агента. Например, к артефактам может привести также отсутствие тщательной отмывки культуры [Skare Julie A. и др., 1986г.]. В некоторых опытах даже показатели осмотического давления, концентрация ионов и pH среды влияли на результаты цитогенетических исследований [Stankowski L.F. и др., 1987г.].

Таким образом, на индукцию хромосомных перестроек в отличие от точковых мутаций влияют самые разнообразные факторы. Зависимость уровня структурных мутаций от многообразных клеточных характеристик свидетельствует о том, что образование аберраций тесно связано с метаболическими процессами в клетке, и в частности с репарационными.

Различия в индукции хромосомных и точковых мутаций, очевидно, связаны с их разной природой и разными путями становления. Так как точковые мутации – это изменения на уровне нуклеотидов ДНК, не затрагивающие белковый компонент нуклеопротеида и не нарушающие в процессе своего формирования целостность хромосомы, а для образования структурных перестроек обязательны разрыв в сахарофосфате и участие белкового компонента, то и возможности для репарации предмутационных повреждений при образовании точковых и структурных мутаций различны.

Исследования роли белково-нуклеиновых взаимодействий в репарации ДНК в клетках эукариот начаты недавно, но влияние состояния хроматина на репарацию ДНК не вызывает сомнений [Hanewalt P.S. и др., 1979г., Хансон К.П., 1981г.]. В частности, установлено, что кинетика репарации на уровне ДНК и хромосом после γ-облучения совершенно различна [Hittelman W.N. и др., 1982г.]. Это объясняется тем, что доступ ферментов репарации к ДНК в составе хроматина ограничен. Так, по данным [Bodell W.I. и др., 1979г.], структурное состояние хроматина влияет на распределение репаративного синтеза не только на уровне нуклеосом, но и на более высоких уровнях его упаковки, а по данным работы [Klug A. и др., 1981г.], доступ нуклеазы к ДНК ограничен гистоновой сердцевиной с одной стороны и прилегающим витком суперспирали ДНК – с другой. Установлено также, что изменение организации хроматина в интерфазном ядре приводит к нарушению репарационных процессов, причем упаковка ДНК в эу- и гетерохроматине хромосом находится под разным генным контролем [Gatti M. и др., 1983г.]. В некоторых случаях особенности строения хроматина могут ограничивать репарацию ДНК (например, в нестимулированных лимфоцитах и высокодифференцированных клетках хрусталика глаза) [Hanewalt P.S. и др., 1979г.].

По данным работы [Suciu D., 1985г.], плотная упаковка хроматина препятствует репарации радиационных повреждений, что способствует развитию индуцированных ядерных пикнозов. В ней приводятся факты зависимости радиочувствительности от структурных и топологических особенностей организации хроматина в интерфазных клетках и высказывается мнение, противоположное устоявшемуся в радиобиологии, о том, что радиочувствительность клеток пропорциональна объему интерфазных хромосом. В то же время при постоянном количестве ДНК радиочувствительность обратно пропорциональна объ-

ему ядра. Например, объем ядер радиочувствительных лимфоцитов колеблется от 20 до 65 мм^3, тогда как для клеток печени ядерный объем достигает нескольких тысяч. Другими словами, радиочувствительность клетки прямо пропорциональна плотности упаковки ДНК при постоянном ее количестве [Suciu D., 1985г.].

Процесс созревания хроматина сопровождается повышением устойчивости ДНК к нуклеазам [Cusick M.E. и др., 1983г.]. На разных стадиях мейоза хроматин в различной степени защищен от воздействия нуклеаз, однако, по данным [Строков А.А., 1982г.], эта устойчивость не пропорциональна степени конденсации хроматина. Следовательно, кроме плотности упаковки есть и другие факторы, затрудняющие доступ нуклеаз к ДНК.

Отмечено также, что поли(АДФ)рибозилирование хроматина имеет функциональное значение для репарации ДНК, вызывает ослабление белково-нуклеиновых взаимодействий в участках репарации ДНК и обеспечивает их доступность для ферментов эксцизионной репарации [Хансон К.П., 1981г.]. В работе [Рапопорт И.А. и др., 1979г.] описан антимутаген ПАЕ, эффективность которого объясняется тем, что он делает ДНК доступной для ферментов репарации. И наоборот, ингибиторы топоизомераз новобиоцин и налидиксовая кислота предотвращают релаксацию суперспирализованной ДНК, что приводит к ингибированию начального этапа репарации [Mattern M.R. и др., 1982г., Mitchell David L.и др., 1986г.].

Следовательно, повреждения на уровне нуклеотидов могут быть недоступными для ферментов репарации, так как защищены „белковым футляром” [Wilkins R.J. и др., 1974г., Jackson D.A. и др., 1982г., Elgin Sarah C.R., 1983г., Davis A.H. и др., 1983г., Prior Ch. P. и др., 1983г.]. Повреждения репарабельны или нерепарабельны в зависимости от их локализации [Abel H., 1979г.]. Очевидно, часть изменений нуклеотидов ускользает от репарации: они либо не узнаются репарационными ферментами, так как не нарушают вторичную структуру молекулы, либо прикрыты белком и недоступны для репарационных ферментов. Например, не удалось зарегистрировать репарации метилированных пуринов в ДНК из экстрактов эмбрионов дрозофилы [Green D.A. и др., 1983г.]. Авторы предполагают, что отсутствие ДНК-гликозилазной активности у дрозофилы свидетельствует о недостаточности системы эксцизионной репарации для удаления модифицированных оснований в ДНК. Известно, что после хронического облучения экспериментаторы фиксируют меньшее количество индуцированных мутаций, чем после острого. Объясняется это тем, что при длительном облучении с малой мощностью дозы системы восстановления имеют больше времени и возможностей для репарации возникающих предмутационных повреждений. Например, при хроническом УФ облучении в конидиях нейроспоры возникает в 4-7 раз меньше мутаций, чем при остром.

Установлено, что при хроническом облучении у нейроспоры образуются исключительно точковые мутации, а не мультигенные делеции, как при остром [Stadler D. и др., 1987г.]. Такие точковые мутации названы „устойчивыми к репарации” и показано, что величина эффекта „доза – время облучения” (частота мутаций при остром облучении, деленная на частоту мутаций при хроническом

облучении при равной общей дозе) различна для отдельных сайтов. Этот факт указывает на то, что точковые мутации могут быть связаны с определенными нуклеопротеидами или конфигурацией ДНК.

О том, что точковые мутации могут формироваться без участия репарационных ферментов, свидетельствует и работа [Slatko B.E. и др., 1984г.]. Авторами обнаружены вставки Р-транспозонов в сайтах мутаций, индуцированных при синдроме дисгенезиса у гибридов дрозофилы, и исследовано влияние нарушений систем репарации ДНК (пострепликативной и эксцизионной) у разных линий дрозофилы на активность Р-транспозонов. Оказалось, что нарушения одного или двух путей репарации не влияют на транспозицию Р-элементов. Был сделан вывод о том, что Р-транспозоны функционируют независимо от систем репарации ДНК и сами кодируют продукты, необходимые для осуществления процесса их транспозиции, так же, как и мобильные элементы прокариот и низших эукариот [Slatko B.E. и др., 1984г.].

Согласно современным представлениям о функционировании репаративных систем в клетках эукариот отдельные биохимические реакции репарации ДНК протекают не независимо, а взаимосвязанно и некоторые из них позволяют клетке функционировать, несмотря на присутствие повреждения, причем синтез ДНК может идти „в обход» нерепарированных повреждений [Ganesan A.K. и др., 1982г.].

Очевидно, этим и объясняются факты отсутствия репарации в клетках млекопитающих, обнаруженные в ряде работ. Так, в работе [Meyn R.E. и др., 1971г.] показано, что в некоторых линиях животных клеток димеры не вырезаются. В работе [Дубинин Н.П., 1978г.] отмечается, что клетки почти всех млекопитающих вообще лишены фотореактивирующего фермента. В то же время в исследовании [Harm H., 1980г.] делается вывод о том, что в клетках роговицы глаза возникают „не фоторепарируемые поражения”, хотя тесты in vitro (при экстракции ДНК из этих же клеток) показывают, что фотореактивируемые поражения ДНК фактически полностью репарируются.

Нерепарабельные или нерепарированные повреждения доживают до синтеза ДНК и фиксируются в точковые мутации редупликационным механизмом [Дубинин Н.П., 1978г.].

Ряд авторов считают, что измененные основания вызывают мутации скорее путем неправильного спаривания, чем путем склонной к ошибкам репарации [Kimball R.F. и др., 1976г., Thomas H.F. и др., 1976г., Brendel M. и др., 1980г.]. Предполагается, что причиной возникновения ошибок спаривания является ионизация оснований ДНК [Lowley P.D. и др., 1961г., Krieg D.R., 1963г.]. В работе [Goodman M.F. и др., 1981г.] показано, что частота образующихся ошибочных спариваний оснований не согласуется с таутомерной моделью. Предполагается, что выбор нуклеотидов управляется не ферментом, а различиями в свободных энергиях спаривания оснований, так как отдельные водородные связи обладают различной связывающей способностью в зависимости от их расположения.

Механизм образования замены пар оснований путем неправильного спаривания описан в ряде работ [Drake G.W. и др., 1976г., Eisenstadt E. и др.,

1982г., Тарасов В.А., 1982г., Singer B., 1981г., Janion C., 1984г.]. Например, в работе [Дубинин Н.П. и др., 1986г.] приводится схема образования и фиксации мутаций путем встраивания измененного основания при вегетативной репликации и делается вывод о том, что фиксация мутаций определенного типа зависит не от эксцизионной репарации, а от вегетативной репликации ДНК. При этом событием, фиксирующим мутации, является ошибка репликации на данном участке ДНК.

Известно несколько типов процессов ошибочного спаривания оснований. Среди них – таутомеризация, ионизация и конформационные изменения (анти - син -вращение пуринов и неоднозначное образование пар оснований). Ряд американских исследователей [Sowers L.S. и др., 1987г.] рассмотрели процесс образования водородных связей между нормальными и модифицированными азотистыми основаниями с новых позиций. Термодинамические исследования ионизации и таутомеризации оснований позволили авторам сделать вывод о важности ионизированных структур для стабилизации модифицированной ДНК в физиологических условиях и о связи между способностью к ошибочному спариванию измененных мутагеном оснований и образованием ионизированных пар оснований.

На репарацию ДНК у эукариот большое влияние оказывает хроматин. Возможно, из-за этого число генов, контролирующих репарацию у высших организмов, больше, чем у прокариот. По мнению Кимбелла [Kimball R.F., 1987г.], реальные процессы репарации у эукариот еще требуют своего выяснения. Это связано с тем, что ДНК в клетке взаимодействует с различными белками, образуя надмолекулярные структуры высших порядков – хроматин, хромосомы, и эффекты ионизирующей радиации в клетке отличаются от того, что можно ожидать, исходя из опытов по облучению ДНК в растворах (Андреев С.Г. и др. 2003г).

Таким образом, существуют различия в становлении точковых и структурных мутаций и, в частности, в зависимости выхода этих двух типов мутаций от эффективности репарационных процессов в клетке. Ряд авторов [Fujikawa K.и др., 1979г, Nataradjan A.T. и др., 1981г.] приходят к выводу, что аберрации хромосом и точковые мутации являются следствиями разных типов первичных повреждений и репарационных путей. Различие репарационных путей становления этих двух типов мутаций не вызывает сомнений. Но различны ли первичные повреждения, приводящие к точковым и хромосомным мутациям? Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют об обратном.

Общность происхождения хромосомных и точковых мутаций

Ряд современных данных свидетельствует о возможной связи между первичными повреждениями азотистых оснований и формированием хромосомных перестроек. Рассмотрим некоторые из них.

1. Неионизирующие излучения и химические мутагены не способны вызывать фосфодиэфирные и межуглеродные разрывы. Для них характерны лишь реакции, обусловливающие потери и модификации оснований. Тем не менее, эти мутагены образуют такие же структурные перестройки хромосом, как и ионизирующие излучения.

2. При введении в пиримидиновое ядро заместителей Br, Cl и при включении в ДНК БДУ возникают спонтанные и увеличивается выход индуцированных УФ и рентгеновским излучением аберраций хромосом [San S.J.S. и др., 1980г., Nataradjan A.T. и др., 1981г., Obe L. и др.,1981г.].

При этом радиочувствительность хроматид зависит от степени замещения тимидина ДНК на БДУ. При замещении более чем на 60 % количество разрывов в облученных хроматидах в 3 раза выше, чем при отсутствии замещения [Wollf S и др., 1981г.]. Установлено, что в бромурацильной ДНК под действием УФ и рентгеновского излучения цепочка реакций начинается с диссоциации атома брома, затем происходят свободнорадикальные превращения сахарного остатка, что приводит в конечном итоге к одиночному разрыву сахарофосфатного остова и образованию структурных мутаций хромосом [Hatchinson F. и др., 1970г.].

3. Химический распад оснований в ДНК, например дезаминирование, может содействовать разрыву водородных связей [Шальнов М.И.,1973г.]. Кроме того, „стопка" оснований может рассыпаться и без разрыва полинуклеотидной цепи в тех местах, где межплоскостное взаимодействие оснований нарушается вследствие потери или модификации одного из нуклеотидов. Эти факты указывают на то, что разрывы нити ДНК могут быть следствием нестабильности цепи, создавшейся в результате потери или модификации нуклеотидов.

4. К аналогичному выводу приводят и данные о реплицирующейся нестабильности хромосом, при которой разрывы хромосом возникают спустя десятки клеточных поколений после облучения. Следовательно, имеет место репликация предмутационных потенциальных изменений, ведущих к аберрациям хромосом. Отсюда вытекает, что молекулярной сущностью таких потенциальных изменений должны быть изменения нуклеотидной последовательности в ДНК, так как данных о том, что в ДНК может реплицироваться что-либо другое, нет.

5. Ионизирующая радиация может вызвать активацию транспозируемых элементов, находившихся ранее в неактивном состоянии [McClintock B., 1984г.]. Транспозоны, меняющие порядок расположения нуклеотидов, повышают темп образования как точковых, так и хромосомных мутаций [Голубовский М.Д., 1982г.]. Транслокация транспозонов сопровождается крупными делециями и инверсиями [Schubert I., 1985г.].

6. Определенные индуцированные повреждения ДНК -межнитевые сшивки типа димеров тимина – служат причиной образования аберраций хромосом [Liu V.W. и др., 1981г.].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что при действии облучения на ДНК первичные реакции начинаются с повреждения азотистых оснований. Часть из них (возможно, нерепарабельные или нерепарированные по разным

причинам) фиксируются в виде точковых мутаций. Другие могут быть основой для появления структурных мутации хромосом.

Мутационные замены аминокислот бывают двух типов: 1) не нарушающие α- или β-спиральной конформации; 2) приводящие к их повреждению разной тяжести: разрушению N-или С-концов, переходу из α- в β -спиральную конформацию и наоборот или разлому исходной вторичной структуры с образованием двух новых [Колчанов В.А.,1981г., Колчанов В.А. и др., 1977г.].

Может быть, мутационные изменения первого типа, не нарушающие конформации хроматина, не подвергаются воздействию репарационных ферментов и дают начало точковым мутациям, а повреждения второго типа приводят путем различных взаимодействий друг с другом и ферментами репарации к образованию хромосомных перестроек?

В 1980 г. была выдвинута гипотеза, согласно которой в основе инициации хромосомных перестроек лежат нарушения оснований ДНК [Preston R.I., 1980г.]. Эта гипотеза – итог многолетних исследований механизмов образования аберраций хромосом, в ходе которых было установлено, что при действии репарационных ферментов на поврежденные основания ДНК образуются одиночные разрывы хромосом, которые в свою очередь ферментативно преобразуются в двойные разрывы, дающие начало структурным мутациям [Brender M.A. и др., 1974г.].

Примерно 2 % всех повреждений ДНК инициируют хромосомные аберрации [Ганасси Е.Э. и др., 1987г., Заичкина С.И. и др., 1986г.]. Поскольку в ядре 1% всей ДНК представлено якорной ДНК, предполагается, что молекулярные изменения именно в якорной ДНК являются причиной хромосомного мутагенеза, а повреждения в других участках не приводят к нарушению структурной целостности хромосомы.

Молекулярные аспекты проблемы „горячих точек” в мутагенезе рассматриваются в работе [Тоомпуу О.Г., 1987г.], в которой указывается, что мутации типа замены пар оснований и типа сдвига рамки считывания часто обнаруживаются в участках ДНК с повторами и в асимметричных сайтах квазипалиндромов. Повторы одного или нескольких нуклеотидов являются предпосылкой для смещенного встраивания комплементарных нитей ДНК с образованием свободных от водородных связей петель. Квазипалиндромы имеют крестообразную структуру, в которой сайты асимметрии также создают петли. Мутации, по мнению автора, возникают по местам петель в результате либо эксцизионной репарации, либо аберрантной репликации.

Таким образом, индуцированные облучением точковые мутации формируются в более короткий промежуток времени и в меньшей степени, чем хромосомные перестройки, зависят от различных внутриклеточных процессов, в том числе и репарационных. К тому же в формировании перестроек хромосом существенную роль играет и белок как составная часть хромосомы, что несомненно влияет на репарацию предмутационных изменений.

Сформированные мутации в зависимости от своего функционального значения приводят или к изменению генотипа, или к гибели клетки (см. рис. 1.1).

Следовательно, если первичные повреждения азотистых оснований не подвергаются воздействию репарационных ферментов (из-за нерепарабельности или недоступности повреждений для этих ферментов), то они фиксируются в виде точковых мутаций. Если же системы восстановления узнают измененное основание и взаимодействуют с ним, то повреждение либо восстанавливается к норме, либо дает начало образованию хромосомной перестройки.

Однако нельзя забывать, что всё это справедливо только для эукариот, имеющих ДНК, сложно упакованную в составе интерфазных хромосом (Андреев С.Г., 2003г), и только для ионизирующих излучений, способных повреждать нуклеотидные основания ДНК, не повреждая его надмолекулярной структуры.

Организменный уровень

Основные количественные зависимости индукции радиационных мутаций от дозы, вида и мощности излучений

Открытие того факта, что между количеством мутаций, возникающих под действием радиации, и дозой радиации имеется прямая зависимость, сыграло очень важную роль в истории радиобиологии, положив начало для широкого применения количественных методов исследования. Для некоторых случаев установлена прямая линейная зависимость генетического эффекта излучений от дозы. Известна прямолинейная зависимость количества лизогенных клеток кишечной палочки, в которых профаг переходит в фаг, от дозы рентгеновых лучей. Такого рода зависимость установлена для многих мутаций у разных организмов (рис. 123). Если на приведенной кривой по индукции фагов в клетках кишечной палочки, а также и в других случаях вычислить для каждой из доз величины, характеризующие количество мутаций, возникающих в процессе естественного мутирования, то мы обнаружим, что при продолжении прямой линии вниз, в левый угол графика, она пройдет через нулевую точку.

Однако для решения этого важного вопроса недостаточно хотя и убедительных, но все же косвенных данных, полученных путем экстраполяции из данных о прямолинейной зависимости количества мутаций от дозы излучения. В настоящее время вопрос о действии малых доз радиации в диапазоне от доли рентгена до 10—20 *р* тщательно изучается. В опытах с дрозофилой показано, что дозы в 5 и в 2,5 *р* дают генетический эффект, укладывающийся в прямолинейную зависимость от дозы.

Что касается разрывов хромосом, то они также возникают в прямолинейной зависимости от дозы. Однако количество хромосомных перестроек, каждая из которых требует для своего возникновения наличия в ядре двух независимых разрывов, в соответствии с теорией вероятности возрастает пропорционально квадрату дозы (рис. 124). При этом, чтобы фрагменты, возникающие

при независимых разрывах, могли бы вступить в новые соединения, ведущие к появлению хромосомной перестройки, они должны появиться сравнительно близко один к другому. Расчеты показывают, что это расстояние не должно превышать 1 *мк.* Поскольку такие двухударные хромосомные перестройки зависят в своем появлении от независимых разрывов, на их появление должна влиять мощность дозы. В случае, если данная доза дается сразу за короткое время, мы можем ожидать максимальный эффект для всех возможных перекомбинаций фрагментов, возникающих одновременно. Если же давать ту же дозу за длительный период времени или по частям, то многие разрывы, возникая разновременно, не могут вступить в перекомбинацию и поэтому фрагмент от разрыва соединяется в старом порядке, восстанавливая исходную структуру хромосомы. Это целиком подтвердилось в опытах с традесканцией, кукурузой и другими организмами. Действительно, количество хромосомных перестроек уменьшается при уменьшении мощности дозы.

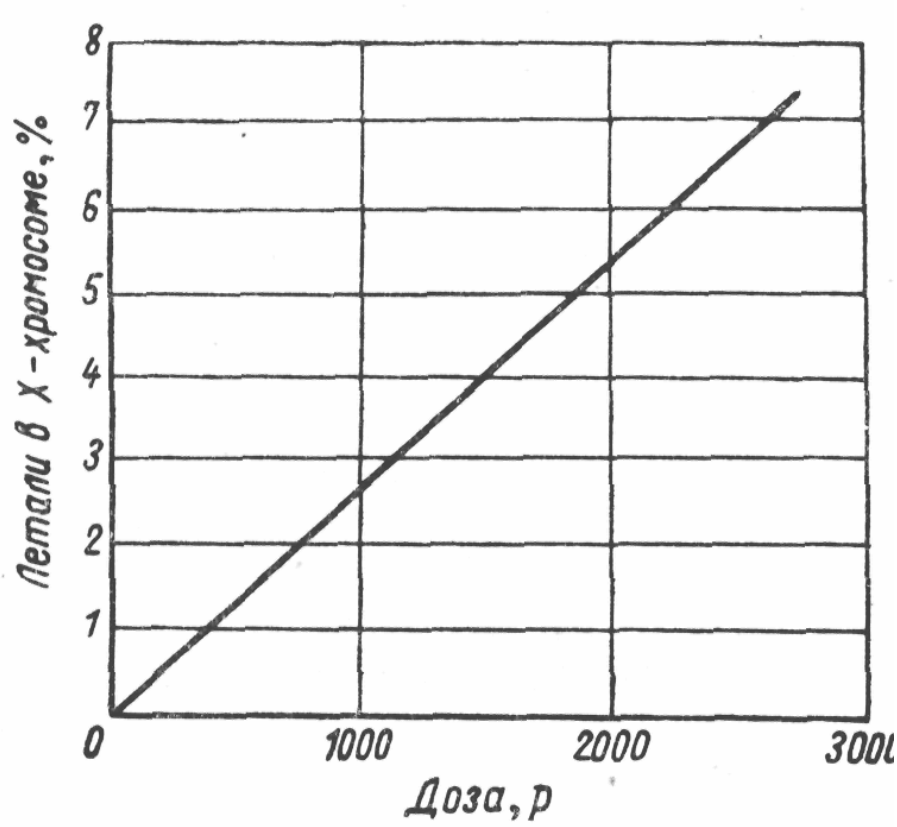


Рис. 123. Прямолинейная зависимость между дозой рентгеновых лучей и процентом рецессивных летальных мутаций, возникающих в половой Х-хромосоме у дрозофилы.

Существенно то, что при разных видах радиации, как мы видели выше, в клетке возникает разное пространственное распределение ионов. В результате при одном и том же количестве поглощенной энергии разные виды излучений оказывают различное генетическое действие. Если принять генетическую эффективность гамма-лучей за единицу, то в среднем медленные нейтроны оказываются эффективнее в 5 раз, альфа-частицы и быстрые нейтроны—в 10 и тяжелые ионы – в 20 раз. Однако для разных организмов и для разных типов му-

таций генетическая эффективность разных видов излучений может заметно уклоняться от указанных средних показателей. Для некоторых мутаций у растений показано, что быстрые нейтроны могут в 100 раз превышать по своей генетической эффективности гамма-лучи.

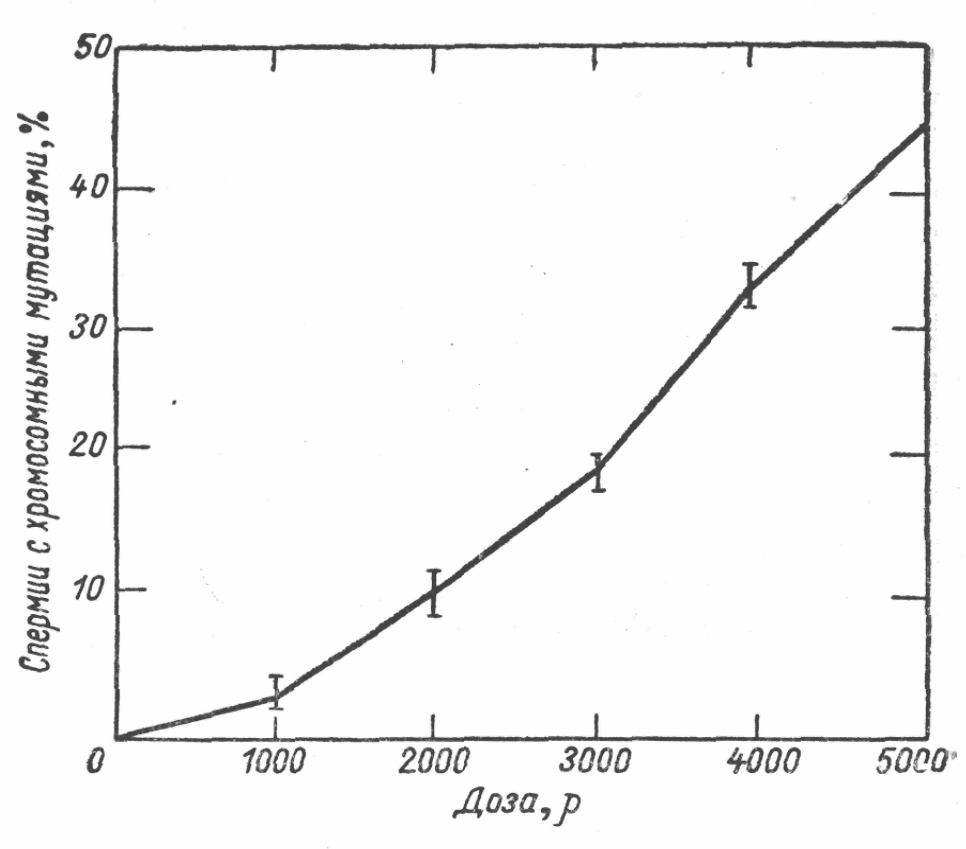


Рис. 124. Связь между дозой рентгеновых лучей и процентом хромосомных перестроек у дрозофилы.

Существенным является тот факт, что количественные зависимости между генетическим эффектом и дозой облучения для разных видов излучений оказываются разными. Мы видели раньше, что при действии гамма- и рентгеновых лучей для точковых мутаций установлена линейная зависимость от дозы, а для двухударных хромосомных перестроек – пропорциональность квадрату дозы. Однако при действии нейтронов и альфа-частиц количество всех типов перестроек растет в линейной зависимости от дозы.

До сих пор остается нерешенным вопрос о влиянии мощности дозы при появлении точковых мутаций.

С одной стороны, имеются факты, говорящие о том, что эффект дозы не сказывается на частоте мутаций. В этих случаях ни фактор времени (т. е. время, в течение которого происходило облучение данной дозой), ни фракционирование облучения не изменяли количества мутаций. В этих случаях благодаря отсутствию порога и какого-либо восстановления мутаций эффект всех облучений кумулировался. Такой пример, мы имеем в случае получения соматических мутаций у табака. Цветы табака окрашены. Однако при мутации определенного гена *P* окраска не развивается. При облучении развивающихся цветков мутации

гена *P* на их лепестках проявляются в виде белых пятен. По количеству этих пятен можно судить о частоте мутаций гена *P*. Растения, подвергаемые хроническому облучению, были высажены на девяти различных расстояниях от источника гамма-лучей (Co^{60}). Ежедневные дозы облучения для разных партий растений, растущих на разном расстоянии от источника, составляли: 1,24; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 150 и 200*р* за 20 *ч.* На рис. 125 графически изображена зависимость числа мутаций от дозы хронического облучения. Как мы видим, эта зависимость имеет ярко выраженный линейный характер. Отсутствие порога отчетливо следует из того факта, что доза в 1,24 *р,* данная в виде хронического облучения за 20ч, заняла свое место в линейной зависимости количества мутаций от дозы. Кумуляция генетических эффектов очевидна и это при условии, что каждая доза от 1,24 до 200 *р* давалась хронически в течение 20 ч.

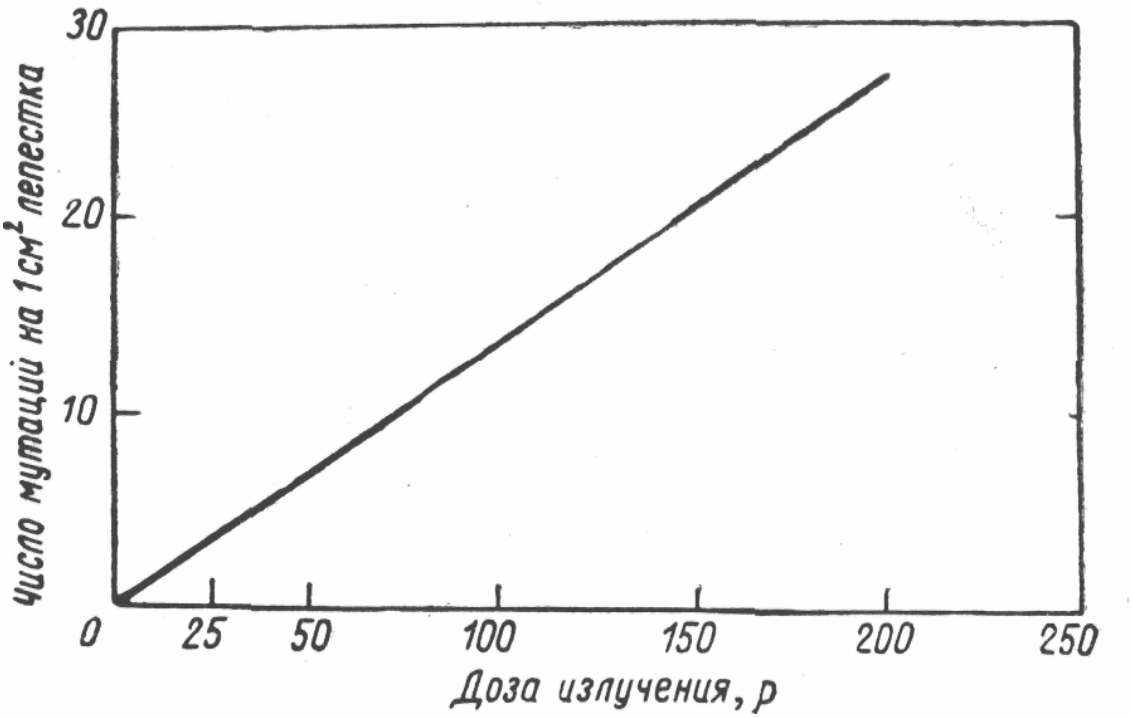


Рис. 125. Линейный характер зависимости от дозы числа мутаций у кукурузы при хроническом облучении.

В работе с дрозофилой при анализе летальных мутаций, возникающих в половой хромосоме, было показано, что фракционированное облучение малыми дозами точно соответствует эффекту всей дозы, данной одновременно. Так, при облучении сперматид гамма-лучами дозой в 20 *р* возникло 0,224+ + 0,040% мутаций. При четырехкратном облучении дозами по 5 *р* получено 0,207 + 0,040%. При облучении сперматид быстрыми нейтронами дозой в 20 *рад* появилось 0,254 + 0,408% мутаций. При четырехкратном облучении дозами по 5 *рад* получено 0,205 + 0,039% мутаций. Сравнивая количество мутаций на 1 *рад,* возникающих в этом случае при острых облучениях большой дозой, мы обнаруживаем, что относительная генетическая эффективность малых доз выше сравнительно с облучением большими дозами. Так, у дрозофилы количество летальных мутаций на один *рад* при острых облучениях спермиев большой дозой (10Гр*)* равно 0,0016%, а при малых дозах – 0,0048%.

Однако в некоторых случаях эффект мощности дозы при вызывании мутаций обнаружен вполне достоверно. Наиболее настойчиво в последние годы этот эффект изучался в опытах по радиационной генетике мышей. В этом случае было показано, что эффект гамма-лучей при изучении мутаций в семи локусах мышей заметно зависит от мощности дозы. Однако в этом случае остается неизвестной цитогенетическая природа изменений в изучаемых локусах, не исключено, что заметная часть из них связана с хромосомными перестройками. Вместе с тем этот вопрос имеет очень большое значение для понимания первичных механизмов действия радиации на наследственность и для сравнительной оценки влияния хронических и острых доз облучения. Что касается хромосомных перестроек, в этом случае, как было разобрано выше, меньшая эффективность фракционированного и хронического облучения по сравнению с острым облучением вполне понятна. Первичный эффект радиации на уровне хромосом, связанный с появлением разрывов, одинаков как при хроническом, так и при остром облучении. Это доказывается теми случаями, когда фрагменты хромосом при наличии определенного физиологического состояния могут долго храниться в клетке и вступать в перекомбинацию лишь спустя известное время. Вполне понятно, что если хроническое и острое облучение определенной дозой вызовет в этих условиях появление одинакового количества разрывов хромосом, то и количество хромосомных перестроек будет одним и тем же. Мы имеем такой пример для спермиев дрозофилы. В этом случае для хромосомных перестроек нет эффекта мощности дозы. В спермиях все фрагменты сохраняются и вступают в соединение лишь после того, как спермий проникает в яйцеклетку. Поэтому безразлично, вызвано ли данное число разрывов путем острого или хронического облучения. Все это показывает, что для хромосомных перестроек эффект мощности дозы не является следствием различий в физических или радиационно-химических процессах, вызываемых при остром и хроническом облучении. Этот эффект проявляется лишь потому, что в клетке изменяются вероятности для перекомбинаций фрагментов хромосом. В этом случае речь идет о репарации незавершенных генетических изменений. Имеются процессы естественного восстановления пораженных структур и энергетическая система, обеспечивающая это естественное восстановление, нарушается при больших дозах облучения. Все эти вопросы остаются пока нерешенными. В этих направлениях сейчас настойчиво развивается исследовательская мысль и проводятся обширные трудоемкие опыты по генетическим эффектам от хронического облучения малыми дозами.

Важные вопросы встают при изучении хронического влияния радиации на наследственность в естественных условиях. В этом случае необходимо особенно внимательно учитывать биологические особенности организмов. Это можно проследить на примере растений.

Главным в поражении растений является эффект ионизирующей радиации на ядро клетки. Измерения соматического эффекта радиации по скорости роста, по весу и другим особенностям показывают, что виды растений могут различаться по радиочувствительности в 500 раз. Эта изменчивость коррелируется с особенностями в структуре хромосом, с их числом и размером клеточно-

го ядра. Растения с малым числом хромосом, что связано с малым числом кинетических тел и большим объемом ядра, наиболее радиочувствительны. Напротив, растения с большим числом хромосом и с малым объемом ядра, в том числе и полиплоиды, являются устойчивыми. Связь малого числа кинетических тел в ядре с высокой радиочувствительностью обусловлена тем, что в этих условиях хромосомные перестройки в митозе ведут к крупным нарушениям в составе дочерних ядер, приводящим к гибели таких клеток. В связи с тем, что пораженное ядро в покоящейся клетке сохраняется в целости и нарушения в его составе появляются в основном в процессе митотического деления клетки, ясно, что генетический эффект радиации, первично возникая во время облучения, начинает свою биологическую реализацию в процессе митоза. При этом в митозе мы имеем механизм очищения ткани от радиационного поражения, ибо клетки с нарушенным ядром гибнут и заменяются нормальными. Вполне понятно поэтому, что при удлинении клеточного цикла механизм очищения работает медленнее и в случае хронического облучения у таких форм происходит накопление ядерных поражений. Регуляция скорости клеточного деления позволяет факторам среды широко влиять на изменение в радиочувствительности организмов.

Таким образом, основными факторами радиационного поражения являются: 1) доза, скорость ее получения (мощность дозы) и фракционирование дозы; 2) вид ионизирующего излучения; 3) скорость клеточного деления; 4) обратимость генетического поражения.

В свете сказанного выше очевидно, что при облучении популяции растений в наибольшей мере должны страдать зародышевые клетки, ибо они на стадии мейоза должны проявлять наибольшую радиочувствительность. Это обусловлено тем, что стадию мейоза клетки характеризуют следующие особенности: а) заметно увеличивается объем ядра; б) клеточный цикл в это время резко замедляется и при этом в такой мере, что для некоторых видов требуется два года, чтобы клетки после мейоза превратились в полностью созревшие семена; в) кроссинговер, действующий при мейозе в парах конъюгировавших хромосом, вызывает нарушения в составе ядра не только по тем перестройкам, которые проявляются в соматическом митозе, но и по инверсиям, незаметно проходящим через обычный митоз.

Значение этих генетических основ в реакции разных видов растений можно иллюстрировать примером. Сосна (род *Pinus)* ввиду большого размера ядра оказывается среди наиболее радиочувствительных растений при влиянии радиации на ее вегетативные органы. Вместе с тем, благодаря большому периоду времени, проходящему между мейозом и созреванием пыльцы, зародышевые клетки сосны оказываются еще более радиочувствительными.

Биологические проблемы радиационного риска

Одним из наиболее важных аспектов проблемы человек—окружающая среда, безусловно, следует считать медико-биологический, так как ухудшающееся состояние среды обитания человека, в первую очередь, оказывает влияние на его здоровье, которое является основой, определяющей качество и количество трудовых ресурсов общества. В силу этого первостепенное значение приобретают вопросы выяснения общих закономерностей взаимодействия организма и среды, определения спектра действующих начал и их приоритетности, сочетанного действия суммы загрязнителей, формирования адаптационных реакций и санитарно-гигиенического нормирования для снижения отрицательных последствий – риска.

Санитарно-гигиеническое нормирование – первооснова обеспечения безопасности человека. Это объясняется тем, что результаты данных исследований служат фундаментом при составлении долгосрочных планов и глобальных акций человека, направленных на оптимизацию жизни на планете. Гигиенический норматив – научно обоснованный количественно и качественно фактор внешней среды, воздействие которого на человека на протяжении всей его жизни не вызывает изменений в состоянии его здоровья и не сопровождается генетическими последствиями [1]. При этом под состоянием здоровья понимается «состояние полного физического, психического и социального благополучия, а не только отсутствие болезней или инвалидности» (ВОЗ).

Одним из наиболее значительных и возрастающих по степени воздействия на человека антропогенных факторов в последние годы стало ионизирующее излучение, широко использующееся в медицине, биологии, народном хозяйстве. Крупным источником поступления радиоактивности в окружающую среду стала энергетика.

В принципе вредные факторы, в том числе и ионизирующее излучение, не должны были бы получать широкого распространения. Однако полный отказ от веществ, вызывающих нежелательные последствия для здоровья при нарушении дозовых регламентации (химические средства борьбы с сельскохозяйственными вредителями, биологически активные соединения, лекарственные препараты и др.), причинил бы гораздо больший ущерб. Следовательно, необходимо искать такое решение, которое позволило бы получать максимально планируемые выгоды при минимальном ущербе человеку, т. е. снизить величину риска.

Риск – в настоящее время широко употребляемое понятие, смысл которого в зависимости от личных взглядов человека может быть весьма различным. В общем значении под риском следует понимать вероятность какого-либо события с, подразумевающимися последствиями за определенный промежуток времени. Мы подразумеваем под риском возможность гибели или поражения людей (заболевание, сокращение продолжительности жизни), а также нанесение вреда имуществу (природе) в результате нормальной эксплуатации промышленного объекта или установки, т. е. отклонение от конеч-

ной экономической цели, ради достижения которой осуществлялась данная деятельность.

На основании определений виды риска можно классифицировать следующим образом:

- общепринятый «де-факто»;
- приемлемый и общепринятый;
- неприемлемый, но общепринятый;
- приемлемый, но не общепринятый;
- неприемлемый и не общепринятый.

Риск «де-факто». Понятие относится к группе явлений или деятельности, риск от которых существует вне зависимости от нашей деятельности. Например, риск от природных явлений: поражение молнией, гибель в результате землетрясения и т. д. Эта категория существует как таковая и к ней нельзя применять термин «неприемлемый».

Приемлемый риск. В общем случае означает «заслуживающий внимания», что подразумевает проведение оценки и анализа явлений. В основном эти оценки относятся к уровню риска для специалистов и профессионалов и включают идентификацию, определение масштабов риска, идентификацию пользы (выгоды) и определение объемов пользы.

При обосновании приемлемого риска наиболее употребительны три методических подхода. Первый метод рассматривает риск в перспективе и сравнивает уровень риска данной технологии с существующим риском принятых в данное время технологий. Считается, что риск новой технологии должен быть, по крайней мере, в 10 раз меньше риска хорошо освоенных технологий. По второму, методу используется сравнение риска и выгоды группы альтернатив для выбора оптимального варианта. При этом риск и выгода выражаются чаще всего в денежных единицах. По третьему методу решение о безопасности обосновывается анализом эффективности затрат, т. е. анализом предельных показателей затраты – выгода или стоимость – эффективность.

Оценка риска представляет собой процесс, направленный на повышение безопасности технологий, и включает три основных элемента: определение риска (идентификация и установление величины риска), характеристика риска (процесс определения вклада и сравнение различных аспектов или элементов риска), управление риском (постановка цели и осуществление политики безопасности). Для количественного сравнения коллективного риска, например от аварий, вводятся следующие определения:

$$\text{Риск}\left[\frac{\text{Последствие}}{\text{Единица времени}}\right] = \text{Частота}\left[\frac{\text{Событие}}{\text{Единица времени}}\right] \times$$

$$\times \begin{matrix}\text{Значительность} \\ \text{последствия}\end{matrix}\left[\frac{\text{Последствие}}{\text{Событие}}\right].$$

Приведем численный пример. В 1989 г. в СССР имело место 320 тыс. автомобильных аварий и один случай из 5,45 кончался смертельным исходом. Коллективный риск смерти в автомобильной аварии может быть оценен как

320×10^3 аварий/год х 1 смертельный исход/ 5,45 аварий = 58700 смертей/год. Далее, если население СССР насчитывает 280 млн. человек, то средний индивидуальный риск может быть определен как

$$\frac{\text{58700 смертей/год}}{\text{280 млн. чел.}} = 2{,}1\text{-}10^{-4} \text{ смертей/чел.-год. (1 смерть на 4770 чел.-год)}$$

Риск от автомобильных катастроф дополнительно увеличивается в результате нанесения травм людям и ущерба имуществу. Статистические данные показывают, что одна травма приходится на 0,92 аварии. Это приводит к коллективному риску: 320×10^3 аварий/год х 1 травма/0,92 аварии = $3{,}5\times10^5$ травм/год и к индивидуальному риску

$$\frac{3{,}5\times10^5 \text{ травм/год}}{\text{280 млн. чел}} = 1{,}24*10^{-3} \text{ (1 травма на 810 чел.-год)}$$

Подобным образом может быть вычислен ущерб от порчи имущества. Для этого необходимо определить усредненную стоимость нанесения травм и поврежденного имущества.

В некоторых случаях риск, считающийся неприемлемым на профессиональном уровне, тем не менее является общепринятым для населения, если оно на основании индивидуальных суждений способно принять этот вид риска или добровольно пренебречь потенциальной опасностью (автогонки), или если общество в состоянии осуществлять в какой-то степени индивидуальный контроль над опасной ситуацией (вождение автомобиля). Общепринятый риск определяет отношение общества к определенному виду деятельности или явлению. Это отношение неоднозначно. Зачастую складывается ситуация, когда для специалистов какой-то вид риска оценивается как приемлемый, а для населения он является неприемлемым (работа АЭС). Однако неприемлемый риск по мере получения информации и осознания обществом может перейти в категорию общепринятого (табл. 1).

Таблица 1. **Классификация и величина риска (количество смертей в год) [2]**

Вид риска	Классификация и величина риска				
	Общепринятый «де факто»	Приемлемый и общепринятый	Неприемлемый, но общепринятый	Приемлемый, но не общепринятый	Неприемлемый и не общепринятый
Рак и сердечно-сосудистые заболевания					10^{-3}
Курение (20 сигарет в день)				10^{-3}	
Бронхит, грипп					10^{-4}
Убийства					10^{-4}
Угольные шахты				10^{-4}	
Автокатастрофы (население)			10^{-4}		
Аварии на ж.-д. транспорте (профессионалы)		10^{-4}			
Лейкемия, туберкулез					10^{-5}
Авиакатастрофы (профессионалы)				10^{-5}	
Альпинизм				10^{-5}	
Естественная радиация	10^{-5}				10^{-6}
Сжигание органического топлива (население)					
Аварии на ж.-д. (население					10^{-6}
Наводнение	10^{-5}				
Торнадо	10^{-6}		*		
Землетрясение	10^{-6}				
Взрывы сосудов давления		10^{-7}			
Прорыв дамбы		10^{-7}			
Поражение молнией	10^{-7}				
Высотные полеты (радиация)		10^{-8}			
Радиация (население вблизи АЭС)		10^{-8}			
Радиация от АЭС (население в целом)				10^{-9}	
Цветной телевизор (радиация)		10^{-9}			
Космическая радиация	10^{-10}				
Падение метеорита	10^{-11}				

В принципе осторожность общества и определенный консерватизм проявляются к большинству новых технологий, связанных с качественно новыми видами риска. Общество считает более приемлемым и готово мириться с привычным риском традиционных видов производств, который в большинстве случаев значительно превышает величину риска новых технологий. Стремление к «абсолютной» безопасности – стремление к нереальному, так как само понятие безопасность является весьма относительным критерием и абсолютной безопасности не существует вообще. Нормативные показатели радиоактивной безопасности обосновываются двумя составляющими: социально-экономической, которая определяет уровень риска (ущерба), принимаемый обществом, и второй – медико-биологической, которая регламентирует дозовые уровни, формирующие приемлемый обществом риск.

Если величина риска, т. е. первая составляющая, может быть определена достаточно корректно исходя из предшествующего опыта общества, путем анализа статистических данных, аналогий, то построение количественных зависимостей (вторая составляющая) наталкивается на значительное количество неопределенностей. Наиболее показательна в этом отношении – зависимость доза—эффект при облучении, конечное проявление которой есть результат интеграции комплекса факторов, начиная от особенностей облучаемого объекта до времени суток облучения. Между тем определение этой величины имеет принципиальное значение, так как для устранения или снижения риска требуются дополнительные капитальные вложения, т. е. происходит перераспределение средств в системе польза—вред на технические цели по снижению риска, что повышает стоимость производимого продукта. В силу этого оптимизация оценок риска приобретает экономическое значение – объем затрат на безопасность и риск. От решения этого вопроса в значительной степени зависят масштабы и темпы развития многих отраслей народного хозяйства, в том числе и отраслей, связанных с использованием ионизирующего излучения.

В настоящее время нет таких производств, которые бы полностью исключали риск гибели, травмы или заболевания. Разработка любой новой технологии сопровождается не только привнесением в жизнь соответствующих запланированных экономических выгод, но дает также определенную величину техногенного риска для населения. Загрязнение окружающей среды и появление новых категорий риска – результат процессов, приносящих определенную запланированную выгоду, направленную на повышение комфорта жизни. Диалектика развития общества такова, что при наблюдаемом ухудшении качества окружающей среды до какого-то предела качество жизни, оцениваемое, например, по ее продолжительности, улучшается (табл. 2).

Превышение критического уровня неизбежно повлечет катастрофические последствия планетарного масштаба (повышение концентрации CO_2 и потепление климата). В силу этого анализ выгоды требует также учета, долгосрочного прогноза и соизмеримости риска. Однако в методологии оценки радиационного риска существует много неопределенностей, особенно при их отнесении к индивидууму или группам населения во временных интервалах, а также обусловленных неодинаковой чувствительностью к действующему фактору отдельных людей. Безопасные уровни воздействия для одних могут быть недостаточно строги и не защищать других представителей экосистемы, хотя и постулируется, что если защищен человек, то защищена и природа.

Вариабельность реакции организма на облучение и неоднозначность получаемых данных отражает генетические различия в популяции людей на действие излучения, что ставит ряд юридических, нравственных, моральных и санитарно-гигиенических вопросов о правомерности экстраполяции средних величин зависимости доза—эффект на всю популяцию. Существующие неопределенности и допущения при определении величины радиационного риска в значительной степени объясняют настороженность общественности к рекомендациям специалистов.

Таблица 2. **Изменение средней продолжительности жизни человека за 15 000 лет [3]**

Период времени	Средняя продолжительность жизни (годы)
Каменный век	19,0
Бронзовый век	21,5
Европейская Античность	20—30
XVI в.	27,5
XVII в.	29,0
XVIII в.	28,5
1891—1900 гг.	40,6
1924—1926 гг.	56,0
1975 г.	58,8
2000 (прогноз)	65,6

Для того чтобы убедить людей в безопасности регламентирующих уровней дозовых воздействий, необходимы более совершенные методы оценки и более доступные формы доказательств для их понимания каждым человеком в отдельности исходя из его представлений о нравственных и личностных ценностях. В частности, добровольный риск, основанный на личных побуждениях, может быть как угодно велик, так как в его основе может быть азарт, получение удовольствия, альтруизм значительное денежное вознаграждение и т. д. Однако его нельзя распространять на все население вровень общественного риска новых технологий и воздействий, приемлемый с позиции экспертов, должен быть принят населением осознанно и добровольно. Во взаимоотношениях экспертов, рекомендующих уровень приемлемости той или иной технологии, с общественностью не должно быть насильственного администрирования, особенно если в орбиту воздействия вредного фактора попадает значительное количество людей.

Какой же уровень риска можно считать приемлемым? По данным [4], социально приемлемым профессиональным риском при длительном воздействии является уровень $5\text{-}10^{-4}$ чел. в год. Эта величина соответствует смерти от болезней людей в возрасте до 30 лет и рассматривается в качестве приемлемой для общества. Следует учитывать также как абсолютный риск (увеличение количества случаев на определенную группу населения), так и относительный (дополнительное количество случаев к их естественному уровню).

Концепция приемлемого риска предполагает, что уровень воздействия вредного агента должен быть настолько низким, чтобы его можно было бы не принимать во внимание, т. е. величина риска не выходила за пределы естественной вариабельности частоты данного явления (заболеваемость, смерт-

ность). Трактовка приемлемого риска включает понятие вероятности, возможности реализации процесса, а не его обязательное развитие.

Сложность выявления реальной величины риска в эпидемиологических условиях при действии малых доз облучения и психологическое восприятие его вне зависимости от фактической величины стало причиной возникновения новых определений, таких, как «недопустимость реализации риска», «условно пороговая доза» и др. Для оценки последствий воздействия на организм различных вредных факторов, в том числе и ионизирующего излучения, предлагается использовать понятие «величина здоровья», которая является интегральным показателем таких параметров, как продолжительность жизни, продолжительность физической и умственной работоспособности, репродуктивная способность, самочувствие и другие показатели [5].

Особую актуальность проблема оценки здоровья, радиационного канцерогенеза и генетических последствий приобрела в связи с катастрофой на ЧАЭС. Сложности в дифференцировке частоты спонтанного (вызванного обычными природными и антропогенными факторами) и радиационно-индуцируемого рака осложняют корректность прогнозирования радиобиологических последствий в силу ряда индивидуальных и эпидемиологических причин (пола, возраста, конституционных особенностей организма, спектра антропогенных загрязнителей, биогеохимических особенностей территории).

В реальных эпидемиологических условиях выделить величину радиационного вклада из суммы воздействия комплекса факторов невозможно, так как в патогенезе радиобиологических эффектов (канцерогенез, генетические последствия) происходит взаимодействие множества механизмов, эффект которых при монофакторном анализе зависимости доза— эффект не учитывается, хотя их значение может быть достаточно высоким. Такие же сложности существуют при экстраполяции данных, полученных на животных, на человека, или результаты биологических эффектов больших доз на область низких дозовых воздействий. Эти аспекты в каждом конкретном случае требуют определенного теоретического обоснования и могут подвергаться сомнению. Поэтому многие количественные определения величин риска в виде числовых зависимостей в значительной степени отражают результаты конкретного методического подхода в их расчете, чем реальную патогенетическую и эпидемиологическую зависимость анализируемых явлений. Факт получения количественно выраженных зависимостей в виде чисел может породить среди неспециалистов представление, что достигнуты однозначная определенность, точность и ясность. Фактически же речь идет о «хороших» и «плохих» цифрах. При этом следует учитывать, что даже в том случае, если эпидемиологически при ограниченных интервалах наблюдения и экспериментально рак не выявляется в изученных условиях и концентрациях, он не может быть полностью исключен. Риск никогда не бывает равен нулю. Он скорее приближается к предельно малым величинам.

Вероятностный характер риска существует лишь до момента его реализации. Вероятность попадания в аварию у пострадавшего и умирающего больного реализована и равна единице, а возможность для него утонуть или

погибнуть от поражения электрическим током составляет нуль. Риск развития рака кожи от УФ – излучения при равной вероятности для большинства загорающих реализуется в редких случаях систематического переоблучения и действия дополнительных факторов. При этом оценка фактора, вызывающего риск, может быть диаметрально противоположной: от его полного отрицания (загар полезен) до принятия некоторых уровней. Диалектичность соотношения риск—выгода может быть прослежена на основе анализа последствий рентгенодиагностики. Если эффект от рентгенодиагностики рака желудка рассматривать относительно изменения продолжительности жизни, то в возрасте 20—24 года эта процедура приносит вред (сокращение продолжительности жизни на 1,1 —1,8 года), в возрасте 30—34 года польза и вред находятся в равновесии, а в 45—59 лет чистая польза (увеличение продолжительности жизни) в зависимости от пола составит 4,5 и 6,1 года [3]. Исследование у 1 млн. женщин в возрасте до 40 лет грудной железы теоретически может индуцировать 10 случаев рака за период жизни [6]. В то же время с помощью этого метода ежегодно выявляется до 800 случаев рака на излечимой стадии.

Четких, однозначных критериев, которые могли бы установить величину приемлемого риска, нет, и существует значительная неопределенность, обусловленная многими причинами, в том числе и позицией экспертов, определяющих приемлемость величины риска. Например, предложенный МЗ СССР пожизненный дозовый предел облучения населения в результате аварии на ЧАЭС в 35 бэр и следующий из этого риск не был принят в БССР, т. е. признан неприемлемым. Поэтому для корректной оценки медико-биологических последствий чрезвычайно важны разработка и научное обоснование критериев приемлемого риска в случае хронического действия малых доз при низких мощностях облучения. Конечной целью этих работ должно быть не только определение реальной величины риска, но и сравнение его с другими видами, рассчитанными аналогичным образом. После этого станет очевидным, какие первоочередные социальные, санитарно-гигиенические мероприятия следует проводить для снижения ущерба обществу. Проведенные страховыми компаниями США исследования влияния различных факторов на сокращение продолжительности жизни свидетельствуют о том, что наибольший вред оказывает и на мужчин и на женщин одинокая жизнь (табл. 3). Однако с этим общество безмолвно мирится.

При расчете величины риска целесообразно использовать несколько методов анализа, позволяющих оценить все возможные варианты положительных, отрицательных и неопределенных результатов. Оценка причинно-следственных зависимостей, рассчитанная одной группой экспертов или одним методом, может быть субъективной, так как основывается на результатах, которые подтверждают точку зрения авторов или содержат только положительную информацию. Поэтому правильное использование статистических данных является первоосновой, на которых базируются возможность идентификации радиогенных форм рака в популяции и оценка их вклада в риск заболеваемости злокачественными новообразованиями.

Таблица 3. **Оценочные расчеты сокращения продолжительности жизни в США вследствие различных причин [7]**

Причина	Сокращение продолжительности жизни (сут)
Холостая жизнь мужчин	3500
Курение сигарет (мужчины)	2250
Болезни сердца	2100
Незамужняя жизнь женщин	1600
Превышение веса на 30%	1300
Работа в угольных шахтах	1100
Злокачественные опухоли	980
Превышение веса на 20%	900
Низкий образовательный уровень (ниже 8 классов)	850
Курение сигарет (женщины)	800
Низкий социальный экономический уровень	700
Паралич	520
Проживание в «неудачном» районе страны	500
Служба в армии во Вьетнаме	400
Курение сигар	330
Опасная работа	300
Курение трубки	220
Потребление с пищей более 100 излишних калорий в день	210
Автомобильные аварии	207
Пневмония/грипп	141
Потребление алкоголя (среднее для США)	130
Несчастные случаи дома	95
Самоубийство	95
Диабет	95
Убийство	90
Неправильное употребление лекарств, обладающих наркотическими свойствами	90
Несчастные случаи на работе	74
Употребление спиртного	41
Работа с источниками радиации	40
Падения	39
Несчастные случаи с пешеходами	37
Несчастные случаи на «самой безопасной» работе	30
Пожары	27
Производство энергии	24
Потребление наркотиков (в среднем по США)	18
Отравление ядами	17
Удушение	13
Несчастные случаи с огнестрельным оружием	11
Естественная радиация	8
Медицинская рентгеновская диагностика	6
Отравляющие газы	7
Потребление кофе	6
Применение противозачаточных средств	5
Несчастные случаи на велосипедах	5
Природные катастрофы	3,5
Потребление жидкости	2
Аварии на АЭС (по данным антиядерного общества обеспокоенных ученых)	2
Аварии на АЭС (по данным Комиссии по ядерному регулированию США)	0,2
Радиационное воздействие ядерной энергетики	0,2

Возникающие при расчете риска методические сложности обусловлены физическими, биологическими и статистическими причинами, порождающими порой сомнения в возможности решения этой проблемы вообще. Основные из них: корректность определения индивидуальных и популяционных доз, привносящих обычно незначительный вклад в облучение от естественных источников, адекватное формирование изучаемой и контрольной групп населения, отличающихся только по уровню радиационного воздействия и одинаковых по остальным показателям (пол, возраст, условия жизни, вредные привычки, спектр и концентрация загрязнителей), выбор показателя риска (заболеваемость раком, генетические дефекты, продолжительность жизни и др.), определение длительности скрытого периода между воздействием вредного фактора и клиническим проявлением болезни и соотнесение анализируемого эффекта эпидемиологом и экспериментатором к одному действующему началу. При этом следует иметь в виду, что радиобиологические эффекты при малых дозах обычно не наблюдаются в достоверно регистрируемых количествах.

Принятое МКРЗ линейное соотношение доза—эффект преувеличивает риск при малых дозах, давая примерно трехкратное его завышение по сравнению с действием высоких доз. Концепция линейной зависимости доза—эффект, первоначально выдвинутая в качестве гипотезы, впоследствии была принята большинством как установленный факт без убедительных доказательств о ее справедливости для малых доз. При этом комиссия исходила из принципа «лучше переоценить вред, чем его недооценить».

В последние годы сформировалось прочное убеждение о высокий опасности облучения вне связи с дозой или сравнением с уровнем риска при действии других вредных веществ. Доминирующая среди биологов точка зрения, что ионизирующее излучение оказывает только отрицательное воздействие на организм, объясняет почти полное отсутствие внимания или отрицание стимулирующего эффекта облучения в малых дозах. По мнению [8], этот эффект ставит под сомнение приемлемость концепции линейной зависимости доза—эффект и диктует необходимость дальнейших исследований этой темы. Вместе с тем следует признать, что экстраполяция закона Арнд—Шульца на ионизирующее излучение будет оправдана лишь тогда, когда будет доказано, что ионизация и другие первичные реакции излучения, носящие характер разрушения, полезны для организма.

Нормирование радиационных воздействий исходит также из уровней естественного радиоактивного фона. Для облучения человека за счет естественных источников характерно то, что облучение происходит на протяжении всей жизни, доза облучения и ее мощность находятся в сравнительно узком диапазоне величин, но могут варьировать на протяжении жизни. Внутреннее облучение характеризуется известной неравномерностью и невозможностью создать чистые без радиации участки и сформировать соответствующие группы людей, т. е. в принципе невозможно провести эпидемиологические исследования, в которых отсутствовало бы излучение. Техногенез усложняет возможность четкого разграничения уровней воздействия естественного радиоактивного фона и вклада за счет техногенных источников (выброс в окружающую

среду радионуклидов при сжигании органического топлива, внесение удобрений, добыча нефти и вынос на поверхность земли природных радионуклидов). Примером могут быть граниты, обладающие повышенной радиоактивностью. В тех случаях, когда они находятся в местах первичного отложения, происходит формирование естественного радиоактивного фона. При их использовании в строительстве создается техногенно повышенный фон радиации.

Линейная концепция доза—эффект предполагает, что определенный риск имеет место и при фоновом облучении. Поэтому с точки зрения [9] оценка риска действия малых доз в эпидемиологических условиях в большей степени должна преследовать прогностическую цель, так как измерить ее из-за статистических трудностей практически невозможно. Его цифровое выражение при действии малых доз в большей степени зависит от использованного методического подхода, чем клинических или эпидемиологических наблюдений: вероятность развития рака на млн/(рад-год) варьирует в зависимости от использованной модели: линейной от 2,4 до $7{,}2\text{-}10^{-5}$, квадратичной 1,4—$3{,}3\text{-}10^{-5}$ и линейно-квадратичной 1,1—$3{,}2\text{-}10^{-5}$, что и нашло отражение в оценках радиационного риска, представленных различными международными организациями (табл.4).

Оценка величины риска при воздействии малых доз требует в первую очередь достаточной численности популяции, особенно в тех случаях, когда ожидаемое превышение заболеваемости или других эффектов незначительно по сравнению с фоновым уровнем. Количество радиационно-индуцируемых случаев рака в соответствии с линейной концепцией пропорционально дозе, численность популяции, необходимая для конкретной оценки, изменяется обратно пропорционально квадрату дозы. Поэтому при низких дозах облучения и высокой спонтанной частоте изучаемой патологии необходимая численность может стать недостижимой (табл. 5). Для того чтобы обнаружить генетические эффекты, которые могут быть вызваны дополнительной дозой 3 мбэр на человека в год, необходимо наблюдение 700 млн. человек на протяжении 3-х поколений.

Выполнение этих исследований требует тщательной дозиметрии, так как даже небольшие отклонения в определении индивидуальной дозы могут привести к грубым ошибкам при расчете коллективной дозы и оценке величины риска на единицу дозы. Особенно важно это при прогнозировании радиобиологических последствий Чернобыльской аварии. Неравномерность распределения по территории и различные химические формы нахождения радионуклидов определяют различные коэффициенты миграции их в организм и высокий диапазон различий индивидуальных доз в пределах ограниченных территорий. Использование при этом средств профилактики рака и генетических повреждений порой вообще ставит под сомнение возможность корректной оценки зависимости доза—эффект для этой категории населения.

Не меньшее значение имеет и возрастной состав наблюдаемого контингента людей. Эпидемиологическими данными показано, что уровни заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в возрасте от 60—70 лет у женщин в 50—60 раз, а мужчин в 100—115 раз выше, чем в воз-

расте до 30 лет. Частота лейкемий растет менее заметно: в указанных возрастных интервалах она увеличивается в 7 раз [12, 13].

Таблица 4. **Опасность смерти от опухолей на 10^6 человек на 1 рад при облучении с низкой мощностью дозы [10]**

Комитет	Диапазон определений
ОБЭИИ II, 1972 г.	115—620
НКДАР ООН, 1977 г.	75—175
МКРЗ, 1977 г.	125 (диапазон не приведен).
ОБЭИИ III, 1980	158—501
НКДАР ООН (без японских данных)	100—440

Таблица 5. **Минимальные размеры популяции, которая должна быть изучена, чтобы показать достоверное увеличение случаев лейкемии при различных дозах облучения [11]**

Доза, полученная от рождения (до 34 лет), Р	Количество человеко-лет, минимальная величина популяции (возраст 35—44 г.).
5	$6 \cdot 10^6$
10	$1,6 \cdot 10^6$
15	$7,5 \cdot 10^5$
20	$5,0 \cdot 10^5$
50	10^5
100	$3,0 \cdot 10^4$
200	10^4

Более высокая частота злокачественных новообразований у лиц старшего возраста объясняется накоплением в организме экзо- и эндогенных канцерогенов, уменьшением с возрастом количества паренхиматозных клеток и увеличением их функциональной активности для сохранения гомеостаза, что повышает вероятность их повреждения и изменения иммунологического статуса организма. В частности, установлено, что у больных с трансплантированными органами, которые подвергаются интенсивной терапии иммунодепрессивными медикаментами, резко возрастает частота опухолей: лимфом в 35 раз, ретикулосарком в 150 раз [14].

Большое значение для понимания реальных механизмов радиационного канцерогенеза, влияющих на корректность оценки риска, имеет изучение комбинированного действия ионизирующего излучения и других факторов различной природы: физической, химической, биологической и социальной. Научно-технический прогресс сопровождается резким увеличением спектра загрязнителей, действующих на организм, как в изолированном виде, так и в самых разнообразных сочетаниях. Существующие методические неопределенности осложняют как оценку сочетанного действия на организм радиационно-

токсических факторов, так и возможность элиминировать удельный вклад каждого из действующих начал в ответную реакцию организма, особенно отдаленных эффектов. Абсолютная и относительная концентрации, длительность и последовательность воздействия в еще большей степени усугубляют трактовку понимания патогенеза сочетанных действий, так как возможны различные варианты интеграции взаимодействия: усиление эффекта (синергизм), суммация и антагонизм.

К сожалению, до настоящего времени в большинстве случаев доминирующим подходом в оценке риска, связанного с последствиями воздействия на организм различных загрязнителей, является монофакторный анализ, хотя это и не соответствует реально существующим ситуациям. Это диктует необходимость разработки единого общественно значимого критерия вредности, показателя здоровья и мутагенности окружающей среды. Недостаточная оценка сочетанных воздействий и их влияния на проявление болезненного процесса может породить преувеличение или уменьшение опасности и, следовательно, изменение санитарно-гигиенических нормативов – в конечном итоге объема материальных вложений в сферу некорректно оцененного ущерба. Поэтому в основу методологии оценки многофакторных воздействий на организм должен быть положен принцип единства организма и среды. Это феномены саморегуляции организма, гомеостаза, адаптации и интеграции функциональных отправлений при воздействии на него вредных факторов окружающей среды.

Отсутствие единой концепции трактовки патогенеза реакции организма при многофакторном воздействии, противоречивость и неоднозначность получаемых результатов осложняют оценку риска действия излучения в сочетании с другими агентами. При этом в роли модифицирующих факторов могут выступать условия обитания, вредные привычки, характер питания. Например, показано, что качество питания изменяет частоту образования спонтанных опухолей у животных. Снижение калорийности потребляемой пищи на 20—30% увеличивает срок появления первых опухолей [15]. Аналогичная зависимость установлена и по отношению к. радиационно-индуцированным опухолям: частота лейкозов у мышей, облученных дозой 1,5 Гр 5 раз с недельным интервалом, при их содержании на полноценной диете составляла у самок 54%, самцов 40% со средним инкубационным периодом 8 мес. При содержании животных на ограниченном пищевом рационе частота лейкозов была 3,6 и 2,8% спустя 9 и 12 мес. [16].

Значительное влияние на индукцию опухолей и течение опухолевого процесса оказывают витамины А, Е, С, которые, как полагают [17], могут быть эффективными средствами противоопухолевого действия. Приведенные данные свидетельствуют о тех сложностях, которые возникают при определении, обосновании и прогнозировании риска, связанного с воздействием на человека и окружающую среду ионизирующего излучения и других факторов. Может быть, изложенное прозвучало несколько пессимистично, но это скорее результат не неверия в возможность решения данной проблемы, сколько понимание тех сложностей, которые необходимо преодолеть в процессе ее реализации.

Поскольку одной из наиболее значительных отраслей промышленности, оказывающей глобальное отрицательное воздействие на окружающую среду и человека, является энергетика, сравнение уровней безопасности и риска воздействия угольной, газовой, нефтяной, гидро-, атомной энергетики должно стать важным этапом в определении оптимальных условий и направлений развития этой отрасли народного хозяйства. Вместе с тем в свете изложенных выше данных очевидно, что использование только критерия риска аварии уже недостаточно для того, чтобы судить о надежности и степени влияния промышленного объекта на окружающую среду, что, в первую очередь, нашло отражение в методологии обоснования безопасности АЭС. Наряду с традиционно используемым подходом, основанным на вероятности максимальной аварии, и расчетом возможных последствий начал применяться новый методологический подход – вероятностная оценка безопасности. В основу этого метода положен не один сценарий, прогнозирующий возможность аварии и ее последствия, а несколько, с рассмотрением действия на окружающую среду и человека (климатические изменения, ранние и отдаленные последствия, заболевания, экономические затраты и др.) что будет представлено в следующем сообщении.

Литература

1. Кротков Ф. Г., Герман А. В. // Гигиена и санитария. 1973. № 10. С. 88.
2. Nuclear and non-nuclear risk-an exercise in comparability Emission of the European Communities. 1980. EUR. 6417 EN.
3. Войтенков В. П. Факторы смертности и продолжительности жизни. Киев, 1987.
4. Ковалев Е. Е. Радиационный риск на земле и в космосе. М., 1976
5. Рамзаев П. В., Тарасов С. И., Машнева Н. И. и др. // Радиационная гигиена. 1978. В. 7. С. 61—66.
6. Feig S. A.//Brit. J. Radiol. 1988. Vol. 61. P. 435.
7. Public underst. of Radiat. Protect. Concept. Paris. OECD/NEA, 1988.
8. Benassai S. Notiz // ENEA. Sicur. e prot. 1985. Vol. 3. P. 50—52.
9. Pochin E. E.,//Brit. J. Radiol. 1987. Vol. 60. P. 45—50.
10. Коггл Д. Биологические эффекты радиации. М., 1986.
11. Радиоактивность внешней среды. М., 1967.
12. Чаклин А. В. // Методологические вопросы изучения онкогенеза. М., 1988, С. 158—182.
13. Злокачественные новообразования. М., 1974.
14. Москалев Ю. И. Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм. М., 1989. С. 190—213.
15. Фролькис В. В. Экспериментальные пути продления жизни. Л., 1988.
16. Gross L., Dreyfuss Y.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1986. Vol. 83, N20, P. 7928—7931.
17. Калистратова В. С. Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм. М., 1989. С. 219—227.

Радиационные риски

Введение

2 мая 1986г. радиоактивное облако от Чернобыльской аварии достигло Англии. 6 мая телефонные линии Комитета национальной радиоэкологической защиты были перегружены вопросами от населения. За последующие две недели получено более 10 000 звонков. Многие интересовались природой радиации и ее эффектами – можно ли находиться на улице, пить молоко, выезжать на природу.

Одна женщина-инвалид пожелала узнать, могут ли родственники принести ей цветы и, увядая, не передадут ли они радиацию. Грустная история, но не удивительная. Эффекты ионизирующей радиации сложны. Нет простых ответов на резонные вопросы, такие, как: "Безопасно ли пить молоко после Чернобыля?" и "Безопасно ли жить возле Селафилда?" Почему нет односложных ответов и какими они могут быть. Почему часто кажется, что эксперты имеют разные точки зрения. Обсуждению этих проблем, в частности возможной опасности малых доз радиации для здоровья людей, и посвящена эта книга.

Во-первых, что мы подразумеваем под словом "радиация"? На бытовом уровне термины "лучи" и "радиация" используются самыми различными способами. Мы говорим "лучи солнца", "ультрафиолетовые лучи", "радиация от радиоактивных веществ", "радиационное лечение рака", "тепловая радиация от огня". Однако, строго говоря, термин радиация должен быть использован для видимого света и форм света, не видимых для нас – радиоволн, микроволн, инфракрасного света, ультрафиолета, рентгеновских лучей, гамма-лучей. Но часто этот термин употребляют в значении "частиц", которые испускают радиоактивные вещества. Книга посвящена той категории радиации, которая называется ионизирующей. Радиация является ионизирующей, если имеет достаточно энергии, чтобы ионизовать атомы, т.е. выбить из них электроны. Ионизирующая радиация включает рентгеновские лучи и гамма-лучи, а также частицы, испускаемые радиоактивными веществами, но не включает свет, инфракрасные волны, микроволны или радиоволны, так как они не имеют достаточной энергии для ионизации атомов.

Высокие уровни ионизирующей радиации способны нанести человеку заметные повреждения и, возможно, летальный исход. При низких уровнях ни один из наших органов чувств не в состоянии определить ионизирующую радиацию. Мы не можем ее видеть, слышать, осязать или обонять. Вместе с тем мы можем получить повреждения, которые станут заметными много лет спустя.

Существует достаточно книг по различным аспектам ионизирующей радиации -высоко специализированных, технических и дорогих. Популярная литература, как правило, необъективная. Публикации издательств ядерной промышленности имеют тенденцию игнорировать некоторые противоречивые данные и сглаживать неопределенности. Наша книга – это попытка обеспечить

элементарное, но взвешенное представление о вычислении рисков от малых доз радиации. Там, где это возможно, мы ссылаемся на первичные источники – оригинальные научные работы, – а не на их толкование.

Несколько слов о плане книги. Во 2-й главе изложены строение атома и ядра, радиоактивное деление и три типа испускания из радиоактивных ядер – альфа-частицы, бета-частицы и гамма-лучи. В 3-й главе описана биология клеток, природа генов и хромосом и как радиация может их повредить. В 4-й рассматривается то, что мы называем "дозой радиации"; в ней представлены основные концепции поглощенной и эквивалентной дозы. Далее идет речь о влиянии радиации в высоких дозах на человека – таких эффектах, как лучевая болезнь, которая появляется очень скоро после воздействия радиации. Главы 5 и 6 приводят различные источники радиации, воздействию которых мы подвергаемся, естественные и искусственные, включая радиоактивное загрязнение и отходы от ядерных установок. Глава 7 кратко дает примеры использования радиации в медицине.

В следующих двух главах обсуждаются способы, с помощью которых, исходя из данных по влиянию высоких доз радиации, может быть вычислено влияние малых доз радиации на здоровье людей; глава 8 описывает риски от радиации для облученных индивидуумов – главным образом образование раковых заболеваний, а глава 9 -опасность для потомков, так называемые генетические риски. При их вычислении указывается, какая доза радиации может быть допустимой. В главе 10 объясняется, как вычисление рисков может быть использовано для определения допустимых уровней облучения и уровней загрязнения в продуктах питания, употребление которых должно быть ограничено. Глава 11 рассматривает данные по влиянию малых доз радиации, полученных преимущественно при обследовании рабочих, получивших профессиональное облучение. Глава 12 обсуждает противоречивые данные по лейкемии у детей, проживающих вблизи атомных станций. Глава 13 кратко описывает наиболее значительные ядерные инциденты – аварии в Виндскейле, Три Майл-Айсланде, Кыштыме и Чернобыле – и рассматривает меры предосторожности во избежание будущих инцидентов.

В главах 2-13 сделана попытка дать по возможности объективно и взвешенно основную информацию о радиационных рисках. Глава 14 представляет в большей степени личные взгляды на существующие факты. Это очень трудно, если не невозможно, отделить точку зрения автора от способа, которым он описывает предмет – автор выбирает, что включать, что исключать, а что усилить. Как бы мы ни пытались, "факты" видятся и отбираются в рамках мнений и предубеждений.

В конце каждой главы мы приводим список использованной литературы, где заинтересованный читатель может получить дополнительную информацию. Всегда имейте в виду – нет ничего лучше первоисточника; лучше самому прочесть научную работу, чем то, что кто-то думает о ней. Многие оригинальные работы являются узкоспециальными и потому трудными для понимания. Мы надеемся, что наша книга станет для читателя средством, облегчающим это понимание.

Предисловие к русскому изданию

Оригинальный английский вариант этой книги, написанной вскоре после Чернобыльской аварии, мне подарил первый и основной автор Дэвид Самнер. С первых же страниц книга привлекла меня простотой и доступностью изложения, мягким юмором. Самые сложные проблемы и спорные вопросы радиобиологии, радиоэкологии и радиационной медицины изложены так, что понятны любому читателю, и в то же время авторы ничего не упрощают, обсуждая и анализируя все современные сведения о действии радиации.

Главное достоинство книги – ее объективность. Дело в том, что многие даже беспристрастные ученые, не говоря уже о журналистах и политиках, иногда бессознательно занимают ту или иную позицию, преувеличивая или преуменьшая опасность радиации. Для обоснования разных точек зрения используют разные факты. А иногда одни и те же факты трактуют по-разному. В этом плане книга Д. Самнера с соавторами "Радиационные риски" является образцом объективного и беспристрастного подхода к изложению самых дискуссионных вопросов. Так, всестороннее обсуждение сведений о повышенной частоте детской лейкемии вблизи атомных станций – яркий пример объективности и научной честности. Неудивительно, что эта книга за короткий срок выдержала в Англии четыре издания.

Еще одна особенность, выгодно отличающая эту книгу, – ее лаконичность. Это своего рода справочник, в котором читатель найдет и классификацию радиационных эффектов, и расчеты рисков и доз, причем большинство данных сведены в таблицы для более эффективного восприятия материала. Каждая глава заканчивается кратким изложением ее содержания (резюме).

Все научные термины, приводимые впервые, выделены жирным шрифтом и объяснены. Кроме того, в конце книги есть словарь, в котором разъясняются используемые термины.

Все это делает книгу прекрасным учебным пособием для студентов и даже школьников старших классов. При этом она, несомненно, интересна и профессионалам: биологам, медикам, экологам и всем тем, кто интересуется радиационными проблемами.

В заключение выражаю глубокую благодарность авторам книги, бескорыстно предоставившим нам право на ее издание в русском переводе. Уверена, что книга "Радиационные риски" будет интересна и полезна русскоязычным читателям, особенно жителям Беларуси, на себе испытавшим последствия Чернобыльской аварии.

Профессор кафедры биологии человека Международного государственного экологического университета им. А.Д. Сахарова, доктор биологических наук
И.Б. Моссэ

Изучение воздействий малых доз радиации

В гл. 8 мы рассмотрели, как можно вычислить факторы риска для рака, вызванного малыми дозами радиации, с помощью экстраполяции данных, полученных при высоких уровнях облучения. Существует ли какой-нибудь способ сделать прямые вычисления рисков от облучения в малых дозах, исследуя частоту рака у людей, облученных в малых дозах? Есть два основных способа, позволяющих приблизиться к этой проблеме:

- изучение популяций, подвергающихся воздействию высоких уровней естественного радиационного фона;
- изучение людей, подвергающихся профессиональному облучению.

Есть еще один важный аспект этой проблемы: в последние годы появились предположения об увеличенной частоте детской лейкемии вокруг ядерных установок в Англии, самой известной из которых является Селафилд в Кумбрии. (Вопрос о детской лейкемии будет рассмотрен в следующей главе.)

Важной проблемой при изучении малых доз радиации является статистика. Рак – это очень распространенное заболевание. В Англии примерно каждый пятый человек умирает от рака. Как мы видели в гл. 8, в настоящее время величина риска равна примерно от 0,04 до 0,05 на зиверт; таким образом, если 100 000 человек получат дозу в 1 мЗв, то мы могли бы ожидать от 4 до 5 дополнительных смертей от рака. Если даже величина риска занижена в 10 раз, 40-50 летальных исходов будут неощутимыми среди 20 000 смертей, которые обычно происходят из-за рака в нашей выборке из 100 000 человек. Вот почему так сложно определить, вызваны ли эти смерти радиацией, поскольку эти дополнительные случаи не превышают величины статистических отклонений для 20 000 случаев гибели от рака. Мы сможем определить эффект радиации только тогда, если будет исследовано большое количество людей или если в расчетах риска имеется серьезная ошибка, или если окажется, что есть существенные биологические отличия раковых заболеваний, индуцированных облучением. Подсчитано, что необходимо исследовать выборку примерно в 10 млн. человек, чтобы выявить частоту дополнительного рака, вызванного облучением в дозе 10 мЗв *(Land,* 1980).

Различия в частоте рака, вызываемые случайными факторами, обычно называют *статистически недостоверными.* Если в исследовании не получен статистически достоверный результат, это не всегда означает, что нет реального эффекта. Просто мы не можем доказать этот эффект потому, что размер нашей выборки слишком мал. В таких случаях часто бывает полезным указать, что этот эффект возможен, но статистически недостоверен. Определить достоверность можно с помощью *доверительного интервала.* В работах, связанных с определением факторов риска от воздействия радиации в малых дозах, обычно используется доверительный интервал, равный 95%.

➢ *Что такое доверительный интервал?*

Предположим, что мы имеем мешок с множеством белых и черных шаров; и предположим также, что каждый из пяти шаров черный, т.е. 20% шаров являются черными, а 80% – белыми. Возьмем выборку в 100 шаров из этого мешка не глядя. Сколько черных шаров получим? Очевидно, не всегда получим 20 черных и 80 белых. Постоянно будут большие отклонения от "ожидаемого" количества черных шаров. Теоретически можно ожидать, что в 95% случаев число черных шаров будет колебаться от 12 до 28. Эту степень неопределенности можно выразить и другим способом: 20+8. Отклонение ±8 определяется величиной выборки; больший размер выборки уменьшит степень неопределенности, а меньший – увеличит ее. Конечно, нельзя определить "истинную"

величину, но можно вычислить степень неопределенности исходя из размеров выборки. В том примере, который здесь приведен, знаем, что "истинная" величина находите где-то внутри ±8 от найденной величины. Этот интервал называется 95% *доверительным интервалом* – в 95% случаев "истинная" величина будет находиться внутри этого интервала. Предположим, что в другом мешке находится 22% черных шаров и 78 % белых. 95% доверительный интервал в этом случае будет равен от 14 до 30. Можно заметить, что доверительные интервалы в обоих случаях сильно перекрываются. (Если бы мы взяли маленькие выборки из каждого мешка, мы не могли бы точно определить что соотношение черных шаров в этих мешках разное.) Конечно, мы не знаем, каковы "истинные" различия; поэтому, определяя доверительный интервал, мы получаем ряд величин, в котором находятся наши данные.

➢ *Наблюдаемые и ожидаемые величины*

При изучении эффективности малых доз радиации мы часто сравниваем число раковых заболеваний, наблюдаемых в действительности в группе людей, с числом, которое можно было бы ожидать на основании средних величин, при этом делая соответствующие поправки на различие по возрасту и по полу нашей группы в сравнении со всей популяцией. Ожидаемое количество рака, вычисленное для этого случая, не обязательно будет целым числом. Например, частота рака определенного типа равна 175 случаев на 10 000 человек, а размер нашей выборки составляет 3400, тогда: ожидаемое количество рака в нашей выборке равно (175/10 000) x 3400=59,5.

➢ *Изучение популяций, подвергающихся воздействию повышенного радиационного фона*

Главные компоненты естественного радиационного фона и их приблизительные уровни в Англии рассмотрены в гл. 5. Существует ряд районов в мире, где дозы радиационного фона значительно выше, чем в среднем в Англии. В некоторых из таких районов проведены специальные исследования, чтобы выяснить, не является ли частота рака или других заболеваний выше, чем в аналогичных районах с более низким радиационным фоном. Вот наиболее интересные из этих данных:

• В течение 1972 – 1975гг. в районах Донг-анлинг и Тонг'ю Гуандонгской провинции Китая проведено сравнение популяции, составляющей 73 000 человек, проживающей в районе с повышенным радиационным фоном, и контрольной группы в 77 000 человек, живущей в соседнем районе с более низким радиационным фоном. Контрольная группа получала среднюю годовую дозу от внешнего облучения 0,7 мЗв, а изучаемая группа – около 2 мЗв. Последняя группа считалась проживающей при повышенном фоне, хотя средние дозы для нее вполне сравнимы со средним радиационным фоном в Англии. Не обнаружено существенных различий между двумя группами ни по частоте рака, ни по количеству наследственных заболеваний, врожденных уродств или спонтанных абортов. (Группа исследования повышенного радиационного фона, 1980.)

• На юго-западном побережье Индии в штате Керала есть район, где находятся залежи минерала моноцита, содержащего торий-232, уран-238 и продукты их распада. В результате этого население подвергается воздействию внешнего облучения в дозах 4-5 мЗв в год, т.е. в 2 или 3 раза выше, чем дозы от среднего радиационного фона в Англии. Исследовали группу в 70 000 человек: обнаружено некоторое увеличение частоты хромосомных аберраций, а также синдрома Дауна, хотя эти данные противоречивы *(Kochupillai et al.,* 1976; *Sundaran,* 1977). Исследовали также ряд других эффектов, включая раковые заболевания, врожденные уродства, раннюю смертность и продолжительность жизни, но никаких существенных различий не обнаружено. Группа людей, получавших дозы, превышающие нормальный спонтанный уровень в 20 раз, имела сравнительно низкие показатели плодовитости и несколько выше величины детской смертности *(Hanson and Komarov,* 1983).

• Третий уникальный район расположен частично в штатах Айова и Иллинойс (США). Там находятся значительные концентрации радия-226 в питьевой воде (средняя активность равна 0,17 Бк на литр). Обнаружена увеличенная частота рака костей и легких по сравнению с контрольными популяциями из аналогичных районов, где концентрация радия-226 менее 0,04 Бк на литр. Однако интерпретация этих данных неоднозначна; например, частота смерти от рака костей в Чикаго, где питьевая вода почти не содержит радия, выше, чем в облучаемой популяции из Иллинойса и Айовы *(Hanson and Komarov,* 1983).

• В 1960г. Курт Браун и другие исследовали уровень смертности от лейкемии в 10 районах Шотландии за 1939-1956гг. *(Court Brown et al.,* 1960). Наиболее высокая смертность обнаружена в Абердине – почти в 1,5 раза выше ожидаемой. Курт Браун указал, что уровень радиационного фона в Абердине также самый высокий, однако могут существовать более веские причины повышенной смертности. В недавно изданном Атласе рака *(Kemp and Boule,* 1985) с 1975 по 1980г. никакого увеличения лейкемии в Абердине не выявлено.

• Кнох с соавторами (1988) исследовал уровень смертности от рака у детей Великобритании и сопоставил его с уровнями внешнего гамма-облучения. Не найдено прямой зависимости между частотами рака и гамма-радиацией. Например, в районе с самыми низкими дозами гамма-лучей частоты рака оказывались самыми высокими. Более тщательный анализ с учетом таких факторов как возраст матери и пренатальное воздействие рентгеновских лучей выявил суще-

ственную корреляцию между смертностью от рака и воздействием гамма-лучей. В настоящее время эти данные нужно пересмотреть с учетом того, что воздействие внешнего гамма-облучения представляет собой только 25% от общего радиационного фона (гл. 5).

Исследования, включающие изучение популяций в штате Керала и в Китае, выявили увеличенную частоту хромосомных аберраций воздействия повышенного радиационного фона. Однако медицинское и биологическое значение таких хромосомных аберраций пока не ясно *(Pohl-Ruling and Fisher,* 1983; *Zufan and Luxin,* 1986).

За редким исключением (данные по штатам Айова и Иллинойс) значительная часть исследований районов с высоким радиационным фоном не выявила влияния облучения на здоровье. Главной причиной этого, очевидно, являются ничтожные размеры исследованных выборок и множественность факторов, влияющих на возникновение рака.

➢ *Изучение людей, подвергающихся профессиональному облучению*

Как указано в предыдущей главе, предельная величина годовой дозы для людей, подвергающихся профессиональному облучению, равна 50 мЗв. В действительности лишь небольшое количество спецперсонала получает дозы, близкие к этому пределу. В табл. 12 приведены средние дозы облучения, полученные различными группами в 1987й *(Hughes, Shaw and O 'Riordam,* 1989).

Таблица 12

Тип работы	Количество рабочих	Средняя годовая доза, мЗв
переработка топлива	9407	4,2
атомные электростанции	22971	0,8
атомная промышленность	45965	2,0
защита	16860	1,0
промышленность в целом	21 000	0,6
третичные образования	13000	0,1
здравоохранение	64000	0,2
естественные источники:		
угольные шахты	81500	1,2
неугольные шахты	2000	14,0
экипажи самолетов	20000	2,0

Проведено большое количество исследований профессионально облученных людей, причем наиболее интересные и важные были выполнены недавно. Опубликованные данные можно разделить на две группы: 1) облучение лиц, работающих в здравоохранении; 2) облучение рабочих ядерной промышленности.

➢ ***Исследование лиц, работающих в здравоохранении***

Смис и Дол (1981) исследовали смертность радиологов в Англии в течение длительного времени. Авторы разделили радиологов на две группы: уровень риска от радиации не был точно известен; начавшие работать после 1921г. Первая группа, очевидно, пострадала от облучения, поскольку уровень смертности от рака у нее на 75% выше, чем у других медицинских работников. Однако у тех, кто стал радиологом после 1921 г., не обнаружено заметных отрицательных эффектов от воздействия радиации. Выявлено 72 случая смерти от рака среди мужчин, которые начали работать после 1921г.; ожидаемый уровень смертности, основанный на средних данных для медицинского персонала, равен 68,6. Некоторые данные об отношении наблюдаемой частоты рака к ожидаемой говорят о ее увеличении с возрастанием продолжительности работы: среди проработавших свыше 10 лет обнаружено 30 смертей в сравнении с ожидаемыми 22,1.

➢ ***Исследование рабочих ядерной промышленности***

Данные по исследованию рабочих Ханфорда

Одним из первых исследований, давших начало противоречивому мнению о воздействии радиации, стало изучение рабочих Ханфордского атомного завода в Ричланде (Вашингтон, США). Первоначально завод предназначался для производства, химического выделения и очистки плутония. Манкусо, Книл и Стьюарт первые опубликовали в 1977г. анализ 3520 смертей среди 25 000 рабочих-мужчин этого завода *(Mancmo et al,* 1977). Обнаружили, что средние кумулятивные дозы радиации у рабочих, умерших от рака, составили 13,8 мЗв, т.е. выше доз радиации у рабочих, что скончались по другим причинам – 9,9 мЗв. Используя модель относительного риска (гл. 8), они вычислили дозы радиации, удваивающие частоту спонтанного рака. Такая "удваивающая" доза оказалась равной 337 мЗв для всех случаев рака, т.е. в 10 раз меньше по сравнению с удваивающей дозой, определенной БЭИР.

Публикация Манкусо вызвала много критических замечаний. Одним из наиболее интересных критиков является Гофман (1979), опубликовавший собственные вычисления факторов риска рака. Они оказались значительно выше, чем рассчитано МКРЗ (см. гл. 8). В работе по изучению Ханфорда, Гофман показал различия в радиационных дозах между раковой и нераковой группами (34 человека, получившие дозы более 100 мЗв). Он обнаружил, что удваивающей дозой для всех форм рака являются 475 мЗв, но доверительный интервал для этой удваивающей дозы очень велик – от 188 мЗв до бесконечности. Отсюда последовал вывод: увеличение рисков могло бы быть достоверно продемонстрировано только для множественной миеломы – рака костного мозга (8 смертей) и рака поджелудочной железы (32 смерти). В работе выявлено: частота лейкемии не зависит от дозы радиации.

Относительно случаев смерти в Ханфорде опубликовано несколько работ, которые носят информативный характер. Так, в публикации Толея и др. в 1983 г. подтверждается влияние радиации на частоту миеломы. Влияния на рак

поджелудочной железы не выявлено, поскольку произошло 4 дополнительных смерти в двух категориях людей с более низкими уровнями облучения, и ни одной новой смерти в категории с более высоким уровнем облучения *(Tolley et* al,. 1983). В 1989г. Гилберт и др. опубликовали анализ 18 категорий рака; показана зависимость множественной миеломы от дозы радиации и в дополнение обнаружена существенная корреляция между дозой облучения и раком женских половых органов (*Yilbert et al.,* 1989).

Данные по исследованию рабочих Атомного ведомства Великобритании

Недавно в Великобритании проведено три исследования лиц, подвергающихся профессиональному облучению. В первом изучено 40 000 служащих Атомного ведомства Великобритании. Средняя доза радиации равнялась 32 мЗв, но разброс был достаточно велик – от 10 до 500 мЗв. Изучены свидетельства о смерти этих служащих и обнаружена увеличенная смертность от различных форм рака – кишечника, семенников, яичников, матки, а также неходжкинской лимфомы *(Beral et al.,* 1985).

Возросшая частота отдельных форм рака не всегда коррелировала с воздействием радиации. Дополнительные случаи рака, вероятно, обусловлены облучением, если число случаев возрастает пропорционально дозе радиации. Авторы отметили, что единственным случаем смерти, достоверно связанной с облучением, был рак простаты. Все случаи простатического рака появились в Вайнфрите, где используются большие количества трития. В этом случае рак мог быть обусловлен воздействием трития, хотя механизм этого воздействия не ясен. Не исключено, что рабочие в Вайнфрите подвергаются воздействию какого-то другого вещества, вызывающего простатический рак.

Рассматривая все эти данные вместе, авторы вычислили факторы риска. Они имеют широкий доверительный интервал. Их значения могли бы в 15 раз быть выше факторов МКРЗ 26 или ниже отрицательного фактора риска, т.е. эти данные могут свидетельствовать о том, что радиация уменьшает риск смерти от рака. Да, мы опять возвращаемся к проблеме статистики, описанной в начале главы.

Вскоре после появления этой работы Дерби, Дол и Пайк (1985) опубликовали результаты по комплексу данных Ханфорда и Атомного ведомства Великобритании. Согласно данным Ханфорда, увеличения случаев простатического рака не выявлено, но обнаружена корреляция между дозой облучения и частотой миеломы. Когда Дерби с соавторами объединили все данные, то обнаружили, что статистически достоверных эффектов нет вовсе. Авторы сделали вывод, что либо данные по Ханфорду и Атомному ведомству Великобритании являются статистическими флуктуациями либо есть какие-то вещества, вызывающие простатический рак и миелому соответственно в двух этих центрах *(Darby, Doll and Pike,* 1985).

Данные по изучению рабочих Селафилда

В 1986г. была опубликована еще одна большая работа, в которой проанализированы причины смерти рабочих Селафилда (Smith and Douglas, 1986). Размер выборки составлял 14 327 человек, работавших с 1947 по 1975гг. Авто-

ры обнаружили дополнительные случаи смерти от миеломы (7 случаев при 4,2 ожидаемых) и простатического рака (19 случаев при 15,8 ожидаемых). Но эти превышения были статистически недостоверными. Правда, выявлена положительная связь между дозой облучения и частотой гибели от рака крови, множественной миеломы и лейкемии. Интересно, что эти корреляции были статистически недостоверными при учете всех случаев смерти. Но они становились достоверными при исключении доз облучения, полученных за 15 лет да смерти. Это наблюдение можно объяснить длительным латентным периодом, во многих случаях более 15 лет, между облучением клеток и возникновением обнаруживаемого рака (глава 8). Авторы попытались сделать свою оценку факторов риска. В главе 8 указано, что величина риска фатального рака, рассчитанная МКРЗ 26, равна 0,0125 на зиверт, или 125 случаев рака на 10 мЗв на 1 000 000 человек. Смит и Дуглас рассмотрели 100 случаев рака и сделали предположение, что эти случаи возникли в течение 20 лет после облучения.

Выраженная таким образом величина риска, рассчитанная МКРЗ, составляет: 5 случаев рака в год на 10 мЗв на 1 000 000 человек. На основании Селафилдских данных авторы рассчитали, что риск равен: 17 случаев рака в год на 10 мЗв на 1 000 000 человек (для воздействия облучения, аккумулированного за 15 и более лет до смерти) – в три раза больше, чем фактор риска МКРЗ 26 и близкий к фактору риска МКРЗ 1990. Однако доверительный интервал, рассчитанный ими, был очень широк: от 30 до 70 случаев рака в год на 10 мЗв на 1 000 000 человек; таким образом, эти данные подразумевают широкий выбор возможностей, включая, как и в предыдущем исследовании, возможность того, что радиация уменьшает риск рака.

Данные по исследованию рабочих Ведомства атомного вооружения (BAB)

Третье исследование профессионального облучения в Великобритании, опубликованное недавно, касается возникновения рака у 22 552 рабочих, занятых в BABe с 1951 по 1982r.(Beral et al., 1988). Средняя кумулятивная доза облучения этих рабочих равна 7,8 мЗв. Хотя частота лейкемии и множественной миеломы была существенно ниже ожидаемой, число случаев смерти от рака возрастало с увеличением дозы радиации, и эта тенденция становилась более существенной, когда учитывалось облучение только за 10 лет (аналогично эффекту, обнаруженному в Селафилде). Эта тенденция обусловлена, главным образом, раком легких и простатическим раком, и сопоставив эти данные с данными по Атомному ведомству Великобритании, авторы предположили, что существует небольшая группа рабочих специфического профессионального риска, связанного, возможно, с внутренним заражением радионуклидами.

➢ ***Комплексные исследования***

Из-за широкого доверительного интервала, который неизбежен при исследовании небольших групп рабочих, предпринимались попытки определить

более точные значения факторов риска путем рассмотрения всех данных вместе.

Дерби и Дол проанализировали 10 исследований профессионально облучавшихся рабочих Великобритании и США (Darby and Doll, 1987). В шести из этих работ можно определить, возрастает ли смертность от рака с увеличением радиационной дозы. В целом выявляется явная тенденция увеличения частоты множественной миеломы, хотя данные по миеломе есть только в трех работах. Значительная тенденция смертности от рака простаты обнаружена только у рабочих Атомного ведомства Великобритании, но не при рассмотрении всех данных. Нет свидетельств общей тенденции смертности от лейкемии, хотя такое предположение делается в двух работах. Рассмотрение всех этих данных позволяет вычислить риск, равный 5 случаям рака в год на 10 мЗв на 1 000 000 человек, который в точности равен фактору риска МКРЗ 26; однако 95% доверительный интервал составляет от 21 до 31, так что верхнее значение этого фактора почти в 6 раз выше величины, определенной МКРЗ 26.

Гилберт с соавторами (1989) недавно опубликовали анализ комплексных данных по изучению рабочих Ханфорда, Ок-Риджской национальной лаборатории и завода ядерного вооружения. 35 933 рабочих были обследованы от 14 до 21 года. Проанализированы 11 форм рака; единственной формой рака, которая положительно коррелировала с дозой облучения, оказалась множественная миелома – эффект, привнесенный данными по Ханфорду.

➢ *Эпидемиология рака вокруг атомных станций*

Вследствие увеличенного радиационного фона вокруг атомных станций были предприняты исследования с целью выявления отрицательных последствий такого фона для здоровья населения. В частности, изучалась частота возникновения рака.

Одиннадцать таких исследований, выполненных в США, обсуждены Токухатой и Смитом (1981). Они пришли к выводу, что нет прямой корреляции между облучением и отрицательными последствиями для здоровья людей. Еще более убедительно исследование, проведенное в США Национальным институтом рака: нет доказательств какого-либо увеличения риска гибели от рака вокруг атомных станций, хотя величина района, в котором собирались данные, могла быть слишком большой для выявления локальных увеличений частоты рака *(Anderson,* 1990).

В исследованиях частоты рака и смертности в районах атомных станций в Англии и Уэльсе за период с 1959 по 1980г., опубликованных в 1987г. ведомством по переписи и обследованию населения *(Cook-Mozaffari et al.,* 1987), сравнивается частота возникновения и смертность от рака вокруг атомных станций со средними величинами по региону и с контрольной зоной – районом, наиболее удаленным от АЭС. Форман и др. *(Forman et al.,* 1987) пришли к заключению, что не было увеличенной смертности от рака вблизи АЭС в Англии и Уэльсе за 1959 -1980 гг., за исключением случаев лейкемии в возрастной груп-

пе от 0 до 24 лет. (О возможном увеличении частоты детской лейкемии в районах АЭС поговорим в следующей главе.)

➢ *Резюме*

Существуют значительные статистические проблемы в вычислении рисков в популяциях, облученных в малых дозах или подвергающихся воздействию высокого радиационного фона, а также рабочих, подвергающихся профессиональному облучению.

Последние исследования служащих Атомного ведомства Великобритании показали увеличенную частоту некоторых типов рака. Фактор риска, вычисленный на основании этих данных, в три раза выше, чем приведенный в МКРЗ 26, но доверительные интервалы для этих данных слишком велики – от величины в 15 раз большей, чем фактор риска МКРЗ 26 (верхний предел), до отрицательного фактора риска (нижний предел).

➢ *Дополнение к четвертому изданию*

В самом последнем обзоре НКРЗ Великобритании по уровням облучения населения Объединенного Королевства *(Hughes and O'Riordan,* 1993) опубликованы средние дозы профессионального облучения в 1991г., которые несколько ниже, чем приведенные.

Таблица 13

Вид работы	Число рабочих	Средняя годовая доза, мЗв
Переработка топлива	9823	1,9
Атомные станции	24726	0,8
Вся ядерная индустрия	44237	1,0
Защита	12565	0,8
Общая промышленность	25000	0,4
Наука и образование	10000	0,1
Здравоохранение	64000	0,1
Естественные источники:		
угольные шахты	48669	0,6
неугольные шахты	1347	4,5
другие виды работ	50000	5,3
экипажи самолетов	24000	2,0

Со времени предыдущего издания этой книги получены некоторые новые данные по вычислению рисков рака у рабочих, подвергающихся профессиональному обучению. Исследование более 95 000 лиц в Национальном регистре "радиационных рабочих" Объединенного Королевства Великобритании *(Kendall et al.,* 1992) показало существенную зависимость роста риска лейкемии от дозы облучения, а также (статистически недостоверную) тенденцию рисков других раков. Факторы риска, вычисленные на основании этих данных, составили величины, почти в два раза большие по сравнению с последними реко-

мендациями МКРЗ, но доверительные интервалы для этих величин очень велики – от 0 до значения, превышающего данные МКРЗ в 6 раз.

От факторов риска к допустимым дозам

Мы убедились, что можно вычислить фактор риска для индукции различных типов рака и генетических дефектов. Данная глава объясняет, как вычисления этих рисков могут быть использованы для определения максимально допустимых уровней облучения.

Рекомендации по ограничению радиационных воздействий были сделаны Международной комиссии по радиологической защите (МКРЗ), которая в 1928г. определила и опубликовала соответствующие регламентации. Настоящие регламентации для воздействия ионизирующей радиации основаны преимущественно на рекомендациях МКРЗ, опубликованных в 1977г. в документе, получившем название МКРЗ 26. В 1990г. МКРЗ приняла новые рекомендации, опубликованные в 1991г. В этой главе мы рассмотрим и рекомендации МКРЗ 26 и новые рекомендации – в дальнейшем мы будем их называть МКРЗ 1990.

➢ *Факторы риска для рака*

Рекомендации МКРЗ используют данные, собранные комиссиями НКДАР и БЭИР, обсуждавшихся в главах 8 и 9. Факторы риска, приведенные в МКРЗ 26, основаны на данных, представленных в отчете НКДАР 1977. Вычисление этих факторов строится на линейной абсолютной модели риска; однако МКРЗ 26 считает, что линейная модель для вычисления рисков радиации с низкой ЛПЭ, вероятно, приводит к переоценке риска, и более приемлемой является линейно-квадратичная модель. МКРЗ 1990 использует отчет НКДАР 1988; здесь снова привлечена линейная модель, но важное отличие от МКРЗ 26 состоит в том, что используется модель относительного, а не абсолютного риска.

В табл.9 представлены факторы риска для различных видов рака, приведенные в МКРЗ 26 и МКРЗ 1990. Обратите внимание, что МКРЗ 1990 приводит факторы риска для МКРЗ 26 использует тот же самый фактор риска – 0,125 на зиверт – для работающего населения (в возрасте от 18 до 64 лет), как и для всей популяции. Однако МКРЗ 1990 приводит два значения фактора риска – 0,04 на зиверт для трудящихся и 0,05 для всей популяции в целом (как указано выше). Величина фактора риска выше для всей популяции, поскольку дети более чувствительны к облучению.

Таблица 9

Фактор риска для фатального рака (на зиверт)		
	МКРЗ 26	*МКРЗ 1990*
Костный мозг	*0,002*	*0,005*
Кровь		*0,003*
Костная поверхность	*0,0005*	*0,0005*
Грудная железа	*0,0025*	*0,0020*
Толстая кишка		*0,0085*
Печень		*0,0015*

Фактор риска для фатального рака (на зиверт)		
Легкие	*0,002*	*0,0085*
Пищевод		*0,003*
Яичники		*0,001*
Кожа		*0,0002*
Желудок		*0,011*
Щитовидная железа	*0,0005*	*0,0008*
Остальные	*0,005*	*0,005*
Общее количество	*0,0125*	*0,05*

МКРЗ 26 использует тот же самый фактор риска – 0,125 на зиверт – для работающего населения (в возрасте от 18 до 64 лет), как и для всей популяции. Однако МКРЗ 1990 приводит два значения фактора риска – 0,04 на зиверт для трудящихся и 0,05 для всей популяции в целом (как указано выше). Величина фактора риска выше для всей популяции, поскольку дети более чувствительны к облучению.

➢ ***Наследственные эффекты***

Фактор риска, принятый МКРЗ 26 для наследственных эффектов в первых двух поколениях, равен 0,004 на зиверт. Добавляя его к фактору общего риска для фатального рака, равному 0,0125 на зиверт, получим общий стохастический риск, равный 0,0165 на зиверт.

В МКРЗ 1990 фактор риска для наследственных эффектов (для всех будущих поколений) равен 0,006 на зиверт для работающей популяции и 0,001 на зиверт для всей популяции.

➢ ***Эффективная эквивалентная доза и взвешенные факторы***

МКРЗ 26. В рекомендациях МКРЗ 26 эквивалентная доза для каждого облученного органа тела определялась отдельно; наиболее облученный орган получил название критического органа. Чтобы вычислить радиационную дозу для всего организма, нужно сделать несколько измерений в различных органах для установления эквивалентной дозы. Согласно рекомендациям МКРЗ 26, необходимо усреднить дозы, полученные различными органами тела, для получения *эффективной эквивалентной дозы.* Это делается с помощью умножения эквивалентной дозы для каждого облученного органа на *взвешенный фактор,* где:

$$\text{Взвешенный фактор} = \frac{\text{Риск, обусловленный дозой радиации в органе}}{\text{Общий риск, обусловленный облучением всего тела в той же дозе}}$$

В МКРЗ 26 приведены следующие взвешенные факторы для разных органов:

Семенники и яичники	*0,25*
Грудные железы	*0,15*
Красный костный мозг	*0,12*
Легкие	*0,12*
Щитовидная железа	*0,03*
Костная поверхность	*0,03*
Остальные	*0,30*

Взвешенный фактор для семенников и яичников является соотношением риска генетической опасности к общему стохастическому риску, т.е. 0,4/1,65 = 0,25 (приблизительно). Взвешенный фактор для легких является соотношением риска рака легких к общему стохастическому риску, т.е. 0,2/1,65 = 0,12 и т.д.

Можно себе представить эффективную эквивалентную дозу как дозу, которая обусловила бы такой же стохастический риск при воздействии на все тело. Предположим, например, что легкие получили эквивалентную дозу 5 мЗв. Тогда эффективная эквивалентная доза будет равна 0,12 х 5 мЗв = 0,6 мЗв. Это значит, что риск, обусловленный дозой 0,6 мЗв на все тело, будет таким же, как риск, обусловленный дозой 5 мЗв, полученной только легкими. Чтобы определить риск рака, мы должны умножить эффективную эквивалентную дозу на величину общего риска, т.е. 1,65 х 10^{-2} $Зв^{-1}$.Таким образом, риск рака равен 0,6 х 10^{-3}х 1,65 х 10^{-2}= 10^{-5}.

МКРЗ 1990. В МКРЗ 1990 приведены следующие взвешенные факторы для разных органов:

Семенники и яичники	*0,20*
Красный костный мозг	*0,12*
Кровь	*0,05*
Костная поверхность	*0,01*
Грудные железы	*0,05*
Толстый кишечник	*0,12*
Печень	*0,05*
Легкие	*0,12*
Пищевод	*0,05*
Кожа	*0,01*
Желудок	*0,12*
Щитовидная железа	*0,05*
Остальные	*0,05*

Обратите внимание, что в отличие от взвешенных факторов МКРЗ 26 эти взвешенные факторы не пропорциональны факторам риска для фатального рака. Например, соотношение взвешенных факторов МКРЗ 26 для легких и щитовидной железы равняется 0,12/0,03 = 4. Это соответствует соотношению факторов риска МКРЗ 26 для фатального рака – 0,2/0,05 = 4. Соответствующее соотношение (легкие/щитовидная железа) для факторов риска МКРЗ 1990 равно 0,35/0,08 = 10,6; но соотношение взвешенных факторов равно 0,12/0,05 = 2,4.

Причина этого различия заключена в том, что извещенные факторы в МКРЗ 1990 учитывают случаи не фатального рака; почти все заболевания раком легких фатальны, но лишь небольшое количество рака щитовидной железы приводит к фатальному исходу. Эффективная эквивалентная доза является удобной с административной точки зрения, в ней сконцентрированы эффекты отдельных радиационных доз, полученных различными органами; очень удобно определять стандарты радиационной защиты на основании этого показателя. Таким образом, стратегия вычисления радиационного риска МКРЗ строится на определении (дефиниции).

➢ *Допустимые уровни облучения*

Допустимые уровни облучения для профессионалов и для всей популяции являются дополнением к дозам естественного радиационного фона и облучения в медицинских целях. Средняя доза от естественного радиационного фона равна примерно 2 мЗв в год. Но существуют значительные отклонения от этой дозы в пределах Великобритании. В этой книге невозможно описать всю историю определения допустимых уровней облучения (те, кого интересует этот вопрос, могут прочесть, например *Lambert,* 1990). Здесь мы ограничимся описанием основных изменений, касающихся предельно допустимой дозы для профессионалов и всей популяции, начиная с 1977г.

➢ *Допустимые уровни облучения для профессионалов*

МКРЗ 26. Согласно МКРЗ 26, максимально допустимая эффективная эквивалентная доза (как указано выше) для профессионалов равна 50 мЗв (5 Р) в год. МКРЗ 26 полагает, что если этот предел будет принят, то средняя доза для них составит 5 мЗв.

Если принять фактор риска МКРЗ 26 для фатального рака, то эффективная средняя эквивалентная доза в 5 мЗв вызовет риск фатального рака, равный $7{,}25 \times 10^{-3} \times 1{,}25 \times 10^{-2}$, т.е. $7{,}25 \times 10^{-5}$.

Согласно МКРЗ 26, этот уровень риска является приемлемым, так как он сравним с риском фатальных случаев в других производствах, "считающихся стандартами высокой безопасности, которые обычно приводятся в качестве примеров производств, имеющих среднюю годовую смертность, обусловленную профессиональной опасностью, не выше 10-4". Допустимый уровень облучения 50 мЗв в год применим только для стохастических эффектов – рака и генетических дефектов. Существует другое ограничение, принятое для облучения отдельных органов, которое, как считается, предотвращает появление нестохастических (или детерминированных) эффектов, например повреждение хрусталика глаза и ожогов кожи. В некоторых случаях при облучении в высоких дозах допустимые дозы для нестохастических эффектов могут быть выше, чем для стохастических. Предельной для нестохастических эффектов является эквивалентная доза 0,5 Зв (500 мЗв) в год для всех тканей, за исключением хрусталика глаза, для которого МКРЗ рекомендует допустимый уровень облучения 0,15 Зв

(150 мЗв) в год. Эти дозы являются предельными независимо от того, облучаются ли ткани отдельно или вместе с другими органами.

НКРЗ Великобритании 1987. Поскольку при пересмотре данных по Хиросиме и Нагасаки факторы риска были увеличены, в ноябре 1987 НКРЗ Великобритании рекомендовала индивидуально контролировать дозы облучения рабочих и не превышать эффективной эквивалентной дозы в среднем в 15 мЗв в год.

МКРЗ 1990. По существующим ныне рекомендациям МКРЗ 1990, допустимые уровни облучения равны 100 мЗв за пять лет, т.е. примерно 20 мЗв в год и могут достигать 50 мЗв в любой отдельный год.

Как указано выше, в МКРЗ 26 для определения допустимых уровней облучения сравнивалась частота фатальных случаев в различных производствах. Сейчас МКРЗ считает, что такой подход является неудовлетворительным по следующим причинам:

- стандарты безопасности на производстве не одинаковы в разных странах;
- частота фатальных случаев является средней для всего данного производства, в то время как уровни облучения касаются отдельных лиц;
- учитывались только случаи фатального рака;
- очевидно, невозможно установить одни и те же стандарты безопасности для различных производств.

Сейчас МКРЗ, согласно ее заявлению, стремится "установить допустимые уровни облучения, превышение которых приведет к последствиям, считающимся недопустимыми для человека. Допустимый уровень облучения является границей между "неприемлемым" и "допустимым" ". Решить, какой уровень риска является "неприемлемым" или "допустимым" очень трудно.

Согласно МКРЗ, при уровне облучения 100 мЗв за 5 лет удастся избежать нестохастических (детерминированных) эффектов почти во всех тканях и органах человека. Однако предел годовой дозы для хрусталика глаза должен быть 150 мЗв и такой же предел необходим для кожи, чтобы предотвратить локальные нестохастические эффекты; рекомендованный допустимый уровень облучения составляет 500 мЗв в среднем на площадь не более 1 квадратного сантиметра.

➢ *Допустимые уровни облучения для населения*

МКРЗ 26. Согласно рекомендациям МКРЗ 26, максимальная доза облучения для населения равна 5 мЗв в год. Поскольку для профессионалов предложен допустимый уровень облучения, равный 5 мЗв, то средняя величина для населения должна быть намного меньше. Группы лиц, которые получают дозы облучения, близкие к допустимым уровням, называются *критическими группам.* Критическая группа – это небольшая однородная группа людей, которые вследствие своего образа жизни подвергаются облучению в более высоких дозах по сравнению с другими членами популяции. В зоне Селафилда критической группой являются члены местного общества рыбаков, которые в больших

количествах употребляют рыбу. МКРЗ считает, что если мы гарантируем для критической группы дозу меньше, чем 5 мЗв, то доза для всех остальных следует уменьшить в десять раз, т.е. в среднем около 0,5 мЗв. Первоначальные рекомендации МКРЗ 1977г. по максимально допустимому уровню облучения населения были изменены в 1985г. В документе 1985г. говорится, что предел эффективной эквивалентной дозы, получаемой населением, равен 1 мЗв в год, а не 5 мЗв, как сказано в рекомендациях 1977г. Однако иногда допускается использовать предельный уровень – 5 мЗв в год, если при этом средняя годовая доза за всю жизнь не превысит 1 мЗв. Кроме того, МКРЗ 26 считает, что для населения приемлемы некоторые риски; например, они добровольно пользуются общественным транспортом. Риск от фатальных случаев на общественном транспорте равен от 1 на 100 000 до 1 на 1 000 000 (от 10^{-5} до 10^{-6}) в год. Если риск гибели от рака, обусловленного облучением, составляет примерно 0,01 на зиверт (10^{-2} на $Зв^{-1}$), то эквивалентная годовая доза в 1 мЗв приведет к риску, равному 1 на 100000, или 10^{-5}. Согласно МКРЗ 26 это приемлемый риск, поскольку он сравним с риском езды на общественном транспорте.

НКРЗ Великобритании 1987. Поскольку после пересмотра данных по Хиросиме и Нагасаки факторы риска увеличены (см. гл. 8), в ноябре 1987г. НКРЗ Великобритании решила, что эффективная эквивалентная доза для всего населения, обусловленная выбросами таких атомных заводов, как Селафилд, не должна превышать 0,5 мЗв в год.

МКРЗ1990 устанавливает предел допустимого уровня облучения для населения равный 1 мЗв в год или "в специальных случаях" 1 мЗв в год в среднем за 5 лет. МКРЗ 1990 описывает два подхода к установлению допустимых уровней облучения населения: первый – это попытка решить, какой уровень риска является допустимым. Этот подход использован в МКРЗ 26 и он же в МКРЗ 1990 для определения дозовых пределов для профессионалов. Второй подход заключается в сравнении доз добавочного облучения с уровнем естественного радиационного фона или скорее с различиями в величинах радиационного фона. В Англии существуют вариации естественной радиоактивности в разных частях страны почти в 1 мЗв. Согласно МКРЗ, эти различия "едва ли могут быть названы неприемлемыми", и поэтому предельная доза в 1 мЗв должна быть приемлемой.

➢ *Оправданность и оптимизация (принцип АЛАРА)*

В дополнение к допустимым дозам МКРЗ рекомендует еще два принципа. Деятельность является допустимой *если:*

• она приводит к положительному итогу – оправдывается практикой;

• облучение является настолько низким, насколько этого можно достичь при разумном использовании экономических и социальных факторов – оптимизация радиационной защиты.

Этот принцип получил название принципа "АЛАРА" *("ALARA")* – по первым буквам английской фразы "As Low As Reasonably Achievable" – "Настолько низкое (облучение), насколько это разумно достижимо", хотя эта аббревиатура

сейчас почти не используется МКРЗ. Что означает *"reasonably achievable"* – "разумно достижимо"? Это можно объяснить так: на практике часто именно экономическая точка зрения определяет такую разумность – меры, которые могли бы уменьшить дозы облучения на небольшую величину, могут не использоваться, если они слишком дороги.

➢ *Допустимый уровень накопления радионуклидов за год*

Дозы радиации для профессионалов и населения могут обусловливаться внешним облучением или радионуклидами, которые проникают в организм с воздухом или с пищей. Если знать, каким образом радионуклиды ведут себя в организме, можно вычислить дозу облучения, обусловленную активностью радионуклидов. Это даст возможность вычислить, какое количество радионуклидов образует радиационную дозу, равную максимально допустимой за год. Это *допустимый уровень накопления* радионуклидов в организме за год. Он рекомендуется для рабочих, подвергающихся профессиональному воздействию радиации. Трудность определения допустимого предела накопления радионуклидов заключается. В том, что эта величина обычно относится к *среднему человеку.* А средний человек – гипотетический индивидуум, который имеет средний рост, вес, физиологию и биохимию: мужчина весом 70 кг, высотой 170 см., в возрасте от 20 до 30 лет, живущий в средней климатической зоне (10 – 20°С). Очевидно, что дозы радиации будут разными для людей, которые существенно отличаются от "среднего" человека. Допустимый уровень накопления радионуклидов должен учитывать различия биологических характеристик индивидуумов.

➢ *Обобщенные производные предельные уровни*

Из допустимого уровня накопления отдельных радионуклидов вытекает максимально допустимая радиационная доза. В жизни же если продукты питания содержат радионуклиды, мы не можем прямо измерить активность радионуклидов, проникших в организм. Как мы уже видели, можно вычислить дозу облучения, обусловленную активностями радионуклидов в различных продуктах, если сделать некоторые предположения о количестве потребленного продукта. Это тип моделирования, описанный в гл. 4. Исходя из этих моделей, вычисление активности радионуклидов в различных продуктах дает возможность определить дозу радиации, равную годовому предельному уровню, получившему название *обобщенного производного предельного уровня.* При его вычислении предполагается, что радиоактивность продуктов остается примерно одной и той же; дозы рассчитываются для критических групп, обычно подростков или детей.

Некоторые примеры обобщенных предельных уровней приведены в табл. 10. Эти величины были опубликованы НКРЗ Великобритании в августе 1987г.

Таблица 10

ОБОБЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПРЕДЕЛЬНЫЕ УРОВНИ		
Цезий- 134	*в молоке*	*200Бк/л*
	в баранине	*2000Бк/кг*
Цезий-137	*в молоке*	*300Бк/л*
	в баранине	*3000Бк/кг*
Иод-131	*в молоке*	*30Бк/л*

➢ ***Принятые аварийные уровни и производные уровни***

В случае утечки радиации такие величины, как предельная эквивалентная доза и обобщенные производные предельные уровни, не используются. Короткое время уровни некоторых радионуклидов могут быть намного выше, чем производные предельные, и следует принять решение о применении контрмер для уменьшения воздействия радиации на население. Например, прием йодных таблеток способен уменьшить дозу облучения щитовидной железы, вызванную радиоактивным йодом; в экстремальных случаях встает вопрос об эвакуации. Приняты два аварийных уровня – верхний и нижний. Если средняя эквивалентная доза, *которой можно избежать с помощью контрмер,* находится между верхним и нижним пределами, то принятие таких мер должно быть обсуждено; если же ожидаемая эквивалентная доза выше верхнего предела, то контрмеры должны быть осуществлены. Аварийные уровни, принятые НКРЗ Великобритании, приведены в табл. 11.

Таблица 11

ПРИНЯТЫЕ АВАРИЙНЫЕ УРОВНИ		
Контрмеры	*Низкий уровень*	*Высокий уровень*
Эвакуация	*30 мЗв**	*300 мЗв**
Убежище (укрытие)	*3 мЗв**	*30 мЗв**
Йодные таблетки	*30 мЗв***	*300 мЗв***
** – доза на все тело, ** – доза на щитовидную железу.*		

В соответствии с принятыми аварийными уровнями определяются *производные аварийные уровни,* которые представляют собой уровни загрязнения продуктов питания, при которых должны быть рассмотрены такие меры, как ограничение употребления. Однако в случае ядерной аварии необходимо руководствоваться уровнями, рекомендованными Комиссией европейских сообществ (КЕС). Эти уровни обычно обозначаются как уровни КЕС.

➢ ***Уровни КЕС для воды***

Концентрация в воде, при которой ее употребление ограничивается с последующим снабжением из менее загрязненной зоны (согласно компетентным органам):

стронций-90	*125 Бк/кг*
йод-131	*500 Бк/кг*
плутоний-239	*20 Бк/кг*
цезий-134/137	*1000 Бк/кг*

➢ ***Уровни КЕС для молока***

Максимальные концентрации для введения запрета на употребление молока:

стронций-90	*125 Бк/кг*
йод-131	*500 Бк/кг*
плутоний-239	*20 Бк/кг*
цезий-134/137	*1000 Бк/кг*

Иногда используются концентрации в беккерелях на литр, а не в беккерелях на килограмм. Эти значения мало отличаются друг от друга, поскольку один литр молока имеет массу около одного килограмма.

➢ ***Уровни КЕС для других продуктов***

Максимально допустимые уровни радиоактивности для употребляемых продуктов питания:

стронций-90	*750 Бк/кг*
йод-131	*2000 Бк/кг*
плутоний-239	*30 Бк/кг*
цезий-134/137	*1250 Бк/кг*

➢ ***Уровни КЕС для детского питания***

стронций-90	*75 Бк/кг*
йод-131	*150 Бк/кг*
плутоний-239	*1 Бк/кг*
цезий-134/137	*400 Бк/кг*

➢ ***Резюме***

Существующие регламентации для ионизирующей радиации основаны главным образом на рекомендациях МКРЗ 1977г. (МКРЗ 26). В них используется фактор риска для индукции фатального рака, равный 0,125 на зиверт (1,25 х 10^{-2} $Зв^{-1}$), для наследственных эффектов (которые проявляются в первых двух поколениях), равный 0,004 на зиверт (0,4 х10^{-2} $Зв^{-1}$).

Оценка генетических рисков

Если облучение повреждает ДНК в спермии или яйцеклетке, это повреждение может быть передано потомкам облученного индивидуума. Такие риски обычно называются генетическими. Как эти риски вычисляются, увидим ниже. Сначала установим, какие наследственные заболевания могут возникать в результате повреждения генетического материала.

Доминантные и рецессивные мутации

У человека нормальная клетка содержит 46 хромосом, сгруппированных в 23 пары. Когда образуется спермий или яйцеклетка, в каждую клетку попадает одна хромосома из каждой пары; когда яйцеклетка и спермий соединяются, число хромосом снова становится равным 46. Таким образом, каждый родитель передает по одной хромосоме из каждой пары. Две хромосомы в каждой паре аналогичны друг другу. Характеристики каждого индивидуума определяются, в конечном счете, генами, которые находятся в хромосомах. В широком смысле гены могут быть разделены на рецессивные и доминантные. Рецессивные гены проявляют свое действие только тогда, когда они присутствуют в обеих парных хромосомах; а доминантные, когда ген присутствует только в одной хромосоме.

Внезапное изменение гена или хромосомы называется *мутацией*. Даже самого маленького изменения достаточно, чтобы изменить структуру белков, синтезируемых в клетке. Мутации могут быть вызваны внешними факторами, включая радиацию и некоторые химические вещества, но могут также появляться и спонтанно.

Около 0,01 детей (1%) имеют болезни или нарушения, обусловленные одной доминантной мутацией. Такими пороками являются полидактилия (дополнительные пальцы на руках или ногах), ахондроплазия (карликовость), хорея Гентингтона, два типа мускульной дистрофии и некоторые виды анемии. Врожденные раковые заболевания – особый случай, поскольку даже если одна мутация наследуется, то вероятность того, что вторая будет приобретена в течение постнатального периода, является равной риску один на миллион клеток. Таким образом, даже если мутация доминантная, для возникновения Рака необходимо, чтобы одна и та же мутация возникла в обеих хромосомах.

Примерно один из четырех сотен детей (0,25%) имеет болезни или нарушение обусловленные рецессивными мутациями. В настоящее время известно более 500 – таких болезней и их число каждый год увеличивается. Наиболее изучены – фенилкетонурия, серповидноклеточная анемия и муковисцидоз.

В принципе, эффект доминантой мутации проявляется в следующем поколении. В то же время эффект рецессивных мутаций может не проявиться в течение нескольких поколений, поскольку обе хромосомы, как в яйцеклетке, так и в спермии должны содержать такие мутации определяемого ими признака проявления. Хотя новые мутации появляются постоянно, они могут быть эли-

минированы, например посредством выкидышей. Итак, рецессивная мутация может быть элиминирована из популяции прежде, чем кто-нибудь ее заметит.

Хромосомные аберрации

Большие повреждения в хромосомах приводят к хромосомным мутациям или аберрациям. Например, если две хромосомы разорваны, то разорванные части могут воссоединяться различным образом, приводя к перестройке ДНК. Хромосомные аберрации, которые являются достаточно большими и видны в обычный микроскоп, часто приводят к стерильности клетки, т.е. она теряет свою репродуктивную способность. Однако аберрации, которые не настолько значительны, чтобы остановить воспроизведение клетки, могут быть переданы следующим клеточным поколениям. Одним из типов перестройки, часто наблюдаемой в клетках человека, является *реципрокная транслокация* – обмен сегментами между двумя или более хромосомами. Многие из таких перестроек могут не быть вредными для индивидуума, но представлять опасность для потомков, поскольку зиготы – клетки, образованные от слияния спермия и яйцеклетки, оказываются генетически не сбалансированными (рис. 18).

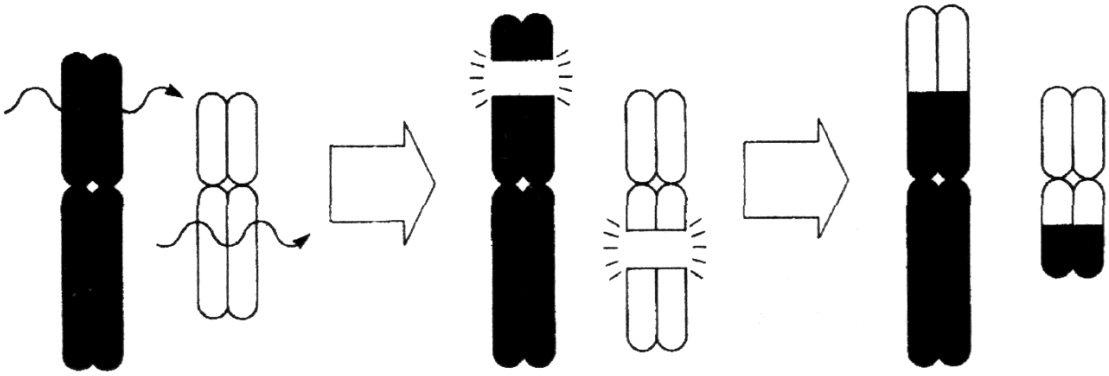


Рис. 18.

Мы уже знаем, что когда образуется спермий или яйцеклетка, они получают по одной хромосоме из каждой пары. Иногда родительские пары хромосом не разделяются – так называемое *нерасхождение.* И в результате образуются организмы, содержащие слишком много или слишком мало хромосом. Индивидуум является *трисомиком* если у него вместо пары хромосом имеется три хромосомы, или *моносомиком,* если вместо пары хромосом есть только одна. В большинстве случаев наличие недостаточного или увеличенного числа хромосом приводит к гибели эмбриона. Одним значительным исключением является *синдром Дауна,* который вызывается дополнительной 21 хромосомой.

Другие болезни с наследственной компонентой

Нарушения, такие, как синдром Дауна и муковисцидоз, имеют главным образом генетическое происхождение и мало зависят от влияния окружающей среды. Существует большая группа заболеваний, которые в значительной степени зависят от внешних воздействий, хотя и имеют генетическую компоненту. Например, диабет, шизофрения, рак и умственная отсталость. Эту

группу болезней иногда называют *мультифакториальными.* Вычислено, что, по крайней мере, у 9 из каждых 100 живорожденных детей (9%) в какой-то период жизни будут проявляться серьезные заболевания, вызванные мультифакториальными врожденными нарушениями.

Генетическое равновесие

Хотя новые мутации постоянно появляются, они так же постоянно элиминируются из популяции. Если факторы, вызывающие мутации, действуют на протяжении длительного времени, можно ожидать, что популяция будет находиться в *генетическом равновесии.* Другими словами, скорость, с которой возникают новые мутации, уравновешивается скоростью, с которой существующие мутации удаляются. Если такую популяцию подвергнуть воздействию повышенного радиационного фона, то возникнет много дополнительных мутаций, их частота в популяции резко возрастет. В конечном итоге будет достигнуто новое равновесие, при котором сколько генетических эффектов возникает, точно столько же и элиминируется в каждом поколении; это новое равновесие будет иметь, конечно, более высокий уровень генетических эффектов, чем прежде. Можно провести аналогию с резервуаром воды, в который из одной трубы вода наливается, а из другой – выливается. Если такой резервуар находится в состоянии равновесия, то поток воды, поступающей в него, точно балансируется вытекающим потоком, и уровень воды не изменяется. Если поступление воды увеличится (соответственно увеличению частоты мутаций, обусловленных воздействием радиации), то уровень воды в резервуаре возрастет. Однако это увеличит и вытекание потока из-за увеличенного давления воды; в конечном счете вытекание будет уравновешено поступлением, и новое равновесие будет достигнуто, но уровень воды в резервуаре будет теперь выше, чем прежде (рис.19).

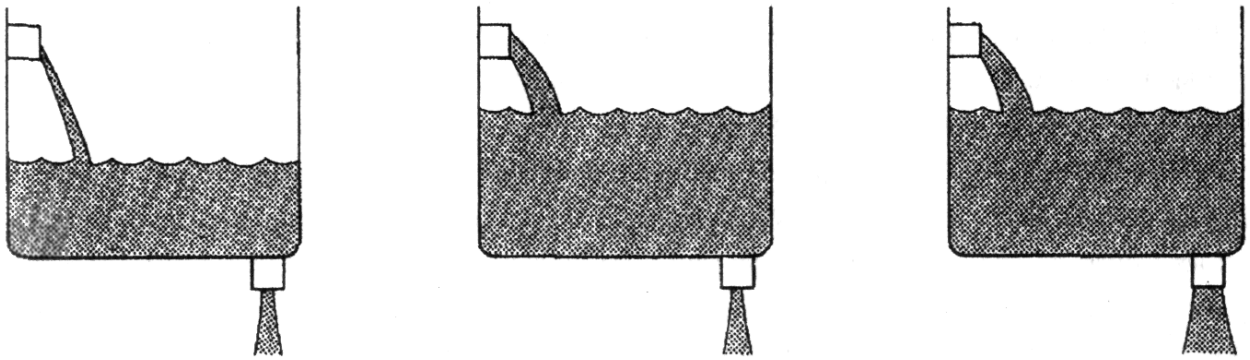


Рис. 19.

Данные, полученные при исследовании людей

За многие годы удалось выяснить, что хромосомные аберрации чаще появляются у людей, получивших радиационное облучение либо в ходе своей работы, либо потому, что живут в области, где естественный радиационный фон выше нормального. Хромосомные аберрации можно легко наблюдать в лимфоцитах – белых клетках крови. Уже при таких низких дозах, как несколько десятков миллизивертов, можно наблюдать появление аберраций, и поэтому этот

метод может быть использован для определения полученной дозы радиации *(Lloyd et al.,* 1986). Биологическое и медицинское значение этих изменений неизвестно. Есть некоторая связь между определенными типами хромосомных аберраций и некоторыми формами рака и лейкемии, но пока еще нет прямых доказательств, что повреждения хромосом действительно вызывают рак.

Поскольку знаем, что облучение может повреждать гены и хромосомы, следовало бы ожидать, что воздействие радиации на родителей приведет к увеличенной частоте врожденных заболеваний у их детей. Самая большая группа людей подвергнутых воздействию радиации – это жители Хиросимы и Нагасаки. Частота врожденных аномалий, преждевременных родов и детской смертности исследована у 70 000 беременных женщин из числа выживших после бомбардировки по сравнению с беременными контрольной группы, которые не были облучены *(Schukk et al.,* 1981). Различия в частоте врожденных аномалий или преждевременных родов не выявлены; обнаружено лишь небольшое увеличение детской смертности в том случае, когда облученными являлись оба родителя. Но эти данные статистически не достоверны, т.е. увеличение могло оказаться случайным.

Лимфоциты 4230 детей, рожденных от выживших после бомбардировки людей исследованы для того, чтобы проверить частоту хромосомных аберраций по сравнению с контрольной группой из 2202 детей, чьи родители не получили облучения. Число детей с хромосомными перестройками было несколько выше в облученной группе по сравнению с контрольной, но статистически значения не различались. Однако, поскольку средний возраст анализируемых людей составлял 24 года, летальные генетические нарушения, очевидно, не учтены, и это могло уменьшить различие между двумя группами.

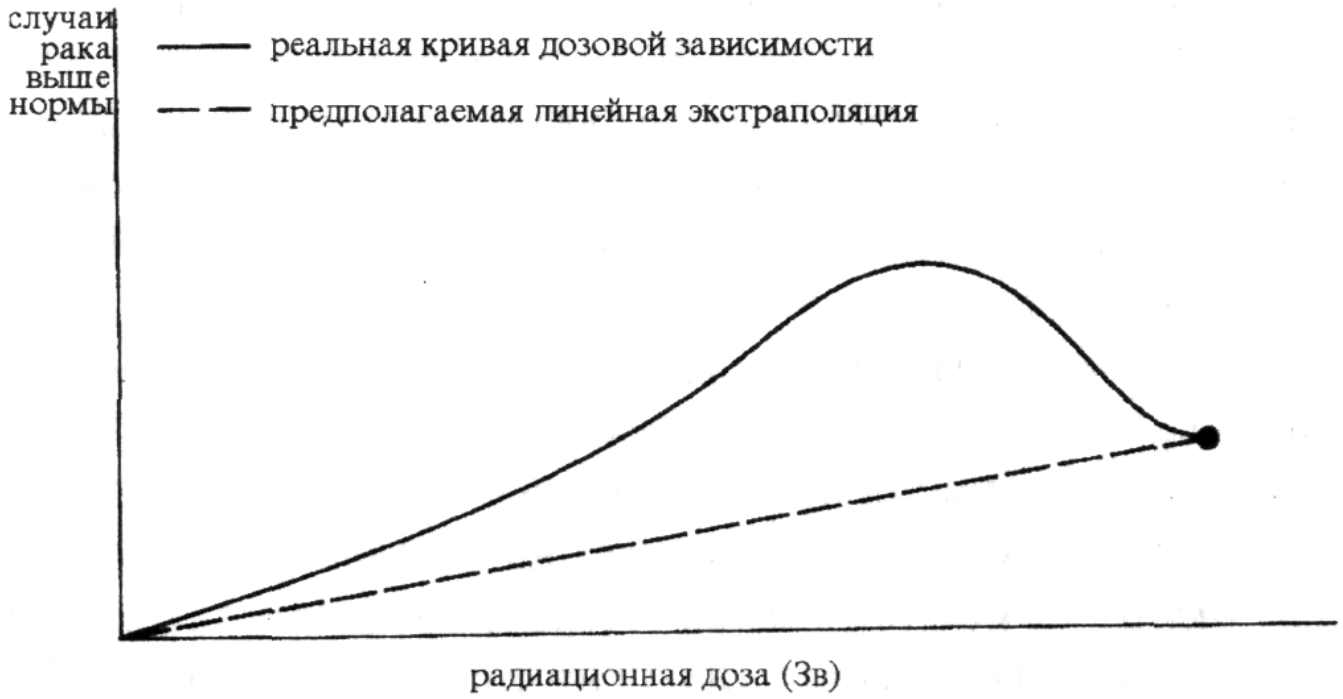


Рис. 20. Кривая доза-эффект, которая загибается вниз вследствие гибели клеток при высоких дозах облучения.

Может показаться, что нет никаких явных свидетельств увеличенной генетической опасности у людей, выживших в Хиросиме и Нагасаки. Мы не должны торопиться с выводами. Возможно, что дозы были слишком высоки и, как видно из рис. 20, кривая доза-эффект при высоких дозах "загибается вниз". Другими словами, генетические эффекты могут проявиться только тогда, когда дозы облучения достаточно низки для того, чтобы клетки могли сохранить свою нормальную репродуктивную способность. Некоторые генетические нарушения могли быть элиминированы за счет выкидышей, а рецессивные мутации могли еще не проявиться.

Существуют некоторые другие данные по исследованию генетического эффекта облучения у людей. Например, обследование детей радиологов по частоте злокачественных новообразований *(Math and Lawrence,* 1955) и недавнее изучение таких же заболеваний у детей Ханфордских рабочих *(Seve et al.,* 1988). Существуют некоторые доказательства, что лейкемия у детей, живущих вокруг Селафилда, связана с облучением их отцов.

Поскольку данные, полученные на людях, неоднозначны, вычисления генетического риска обычно основывают на данных экспериментов с животными, в частности мышами. Изученные мутации включают:

- те, которые вызывают нарушения скелета (изменения формы костей, вызываемые слишком медленным или слишком быстрым их ростом, изменения в относительном расположении костей),
- мутации, вызывающие катаракту глаз у мышей.

Синдром Дауна

Примерно 1 из 600 живорожденных детей имеют синдром Дауна, характеризующийся специфическими внешними признаками и умственной отсталостью. Возникновение этого синдрома сильно зависит от возраста матери, и возникает менее чем у одной из тысячи матерей в возрасте до 25 лет, но почти у каждой четвертой в возрасте 44 лет и старше.

Большинство случаев синдрома Дауна обусловлены *трисомией,* при которой все клетки имеют дополнительно лишнюю 21-ю хромосому. Но некоторые случаи обусловлены *транслокацией,* в которой другая хромосома (часто 14-я) заменяется хромосомой, образованной от слияния 21 -и и 14-й хромосом.

Не известно, может ли синдром Дауна быть вызван воздействием малых доз радиации. В недавнем обзоре 16 исследований, в 13 указывают на положительную связь между облучением матерей и синдромом Дауна, хотя только в 6 из них эта связь является статистически достоверной *(Uchida,* 1979). Нет никаких доказательств увеличенной частоты синдрома Дауна у детей, рожденных жителями Хиросимы и Нагасаки.

Другая причина, вызывающая сомнения относительно связи синдрома Дауна с воздействием радиации, заключена в том, что до сих пор с помощью радиации не удалось вызвать трисомию у животных. Однако получена кривая доза-эффект для индукции нерасхождения в зрелых яйцеклетках мыши, хотя и при относительно высоких дозах облучения *(Hansman andProbeck,* 1979).

Вычисление факторов риска

В предыдущей главе мы видели, что вычисление риска возникновения рака под действием радиации зависит от того, как экстраполируем кривую доза-эффект. Когда мы вычисляем генетический риск, у нас нет сомнений в форме кривой доза-эффект при малых дозах; данные на животных свидетельствуют о линейной модели, поэтому мы считаем, что риск пропорционален дозе облучения.

Таблица 8

Факторы генетического риска (БЭИР 1989)			
Тип нарушения	Частота возникновения	Увеличение на зиверт на поколение	
		первое поколение	равновесие
доминантные мутации	1%	0,05% -0,35%	1%*
рецессивные мутации	0,25%	очень мало	очень медленное увеличение
врожденные дефекты	2% – 3%	0,1%	0,1% – 1%
хромосомные аберрации	0,44%	менее чем 0,1%	увеличение незначительное
* Поскольку эта величина равна частоте возникновения мутаций (1%), это означает, что удваивающая доза равна 1 Зв.			

Тем не менее существуют разные методы, используемые для вычисления генетических рисков. Частоту индуцированных мутаций можно выразить в абсолютных терминах (вероятность мутирования данного гена при облучении в 1 зиверт) или в относительных единицах – отношение такой частоты мутаций на зиверт к частоте спонтанных мутаций. Это отношение называется относительным мутационным риском и выражается в $Зв^{-1}$. Часто используют показатель *удваивающей дозы,* т.е. дозы, которая вызовет 100% увеличение частоты спонтанных мутаций. Удваивающая доза обратна относительному мутационному риску. Предположим, например, что 1 Зв увеличивает уровень мутаций на 50% сверх спонтанного уровня. Если 50% выразить в долях, Получим 0,5. Таким образом, относительный мутационный риск равен 0,5, а удваивающая доза составит 1:0,5 или 2 Зв. Приведенная ниже табл.8 содержит факторы риска, Рассчитанные БЭИР (1989).

Хотя небольшое увеличение генетических эффектов у детей жителей Хиросимы и Нагасаки было статистически недостоверным, Нил и др. *(Neel at al, 1990*) использовали эти данные, чтобы вычислить (очень приблизительно) удваивающую дозу для генетических нарушений у человека. Полученная ими величина составляет от 1,7 до 2,2 Зв, что немного выше приведенной здесь удваивающей дозы, которая основана на изучении животных.

Факторы риска, согласно МКРЗ 1977 г.

Фактор риска для наследственных эффектов, принятый Международной комиссией по радиологической защите в 1977г., был равен 0,004 на зиверт или $0,4 \times 10^{-2}$ Зв$^{-1}$ *только для первых двух поколений.*

Факторы риска, согласно МКРЗ 1990 г.

В новых рекомендациях МКРЗ фактор риска для наследственных эффектов равен 0,01 на зиверт или 10^{-2} Зв$^{-1}$ *для всех будущих поколений для всей популяции.* Эта величина уменьшается до 0,006 на зиверт ($0,6 \times 10^{-2}$ Зв$^{-1}$) для популяции трудоспособного населения, т.е. за исключением детей.

Фактор риска МКРЗ 1990 такой же, как представлен в предыдущей таблице (взятой из отчета БЭИР V) и относится к ожидаемому числу доминантных генетических нарушений. Считается, что число рецессивных нарушений очень мало, а возможные изменения в частоте болезней, которые вызываются как генетическими факторами, так и факторами окружающей среды, не учитываются. Согласно отчету БЭИР V, "...большинство неопределенностей в вычислении рисков радиационно-индуцированных мутаций обусловлено сложным характером наследования, что является результатом сочетания множества, как генетических факторов, так и факторов окружающей среды. Величина риска определяется частично степенью, в которой эти нарушения обусловлены мутациями, но генетическая компонента многих из наиболее распространенных нарушений очень неопределенна. Комиссия БЭИР V рекомендует исследовать такие сложные нарушения для того, чтобы отделить генетические причины от факторов окружающей среды".

Резюме

Врожденные заболевания и дефекты у человека могут быть обусловлены *доминантными* или *рецессивными* мутациями, или *хромосомными аберрациями.* Общее количество частично или полностью генетически обусловленных заболеваний составляет примерно 10% от числа живых новорожденных.

Нет полученных на людях данных, которые убедительно продемонстрировали бы генетическую опасность ионизирующей радиации.

Вычисления риска генетических повреждений, вызванных радиацией, основаны на изучении животных, главным образом мышей. Согласно расчетам МКРЗ, генетическое равновесие будет установлено при возникновении дополнительно 10 000 доминантных генетических дефектов на 1 миллион новорожденных, если родители облучены дозой 1 Зв. Однако влияние радиации на заболевания, обусловленные как генетическими причинами, так и факторами окружающей среды, не определено.

Риски малых доз радиации

"Производство электричества с помощью ядерной энергии является сложным делом. Зачастую создаются эмоционально напряженные мнения при

недопонимании этого предмета". "Англия импортирует смертельные грузы ядерного топлива от иностранных реакторов". Это слова из обращения Британского ядерного форума и обращения Гринпис.

В наших газетах, по телевидению и радио часто обсуждаются радиационные риски, действительные или мнимые. Литература, издаваемая агентствами ядерной промышленности и антиядерными группами, содержит противоречивые утверждения. Вы, конечно же, задаете себе вопрос, насколько опасны (или безопасны) малые дозы радиации? Под "малыми дозами" мы подразумеваем, дозы радиации, меньшие, чем 100 мЗв; для доз ниже этого уровня нет никаких прямых доказательств их влияния на здоровье людей, за вероятным исключением детского рака, вызванного пренатальным воздействием рентгеновских лучей, и возможным исключением детской лейкемии от облучения отцов – гипотеза Гарднера, обсужденная в гл. 12. При таких малых дозах риски можно вычислить только с помощью экстраполяции с высоких доз. (Кстати, риски ионизирующей радиации – это не единственные риски, определяемые с помощью экстраполяции; иногда малые риски сравниваются, например, с риском курения одной сигареты в неделю, т.е. с риском, который также может быть определен с помощью экстраполяции – используя наблюдаемый риск курения 20 сигарет в день.)

Существует целый ряд неопределенностей в вычислении рисков путем экстраполяции. Тем не менее в настоящее время это единственный путь для вычисления рисков малых доз радиации: мы видели в гл. 11, что были сделаны прямые исследования влияния малых доз радиации на здоровье, но следовало изучить огромные группы людей для определения факторов риска с большей точностью, чем полученные путем экстраполяции.

Единственный путь, по которому эти вычисленные риски часто сравниваются с другими рисками, приведен в табл. 15 (взята из буклета НКРЗ Великобритании "Жизнь с радиацией"), указывающей на *ежегодный риск гибели* по другим причинам.

В аналогичной таблице приведен ежегодный риск гибели на различных производствах.

Средний ежегодный риск гибели в Великобритании от происшествий на различных производствах и от потенциального рака, обусловленного профессиональным облучением рабочих радиационной промышленности.

Таблица15

Средний ежегодный риск гибели в Великобритании от разных причин

Причина	*Риск гибели*	*в год, х 10^{-5}*
курение 10 сигарет в день	*1на 200 или*	*500*
естественные причины за 40 лет жизни	*1на 700 или*	*140*
происшествия на дороге	*1на 10000 или*	*10*
происшествия дома	*1на 10 000 или*	*10*
происшествия на работе	*1на 50 000 или*	*2*
облучение от ядерных источников (0,3 мЗв)	*1на 70 000 или*	*1,4*
Все случаи	*1на 80 или*	*1200*

Таблица 16

Производства	*Риск гибели в год, x10^{-5}*
морское рыболовство	*1 на 500 или 200*
угольные шахты	*1 на 7000 или 14*
строительство	*1 на 10 000 или 10*
металлургия	*1 на 17 000 или 5, 9*
радиационная промышленность (1,1 мЗв в год в среднем)	*1 на 27 000 или 3,7*
текстильная промышленность	*1 на 28 000 или 3,6*
производство пищевых продуктов, напитков и табака	*1 на 45 000 или 2,2*
деревообрабатывающая промышленность	*1 на 100 000 или 1,0*
производство одежды и мехов.	*1 на 300 000 или 0,3*

Радиационные риски в этих таблицах рассчитаны с помощью фактора риска НКРЗ Великобритании, равного 0,045 на грей или на зиверт. К таблицам следует сделать несколько замечаний:

• *Очень трудно почувствовать величину чрезмерно маленьких рисков.*

Вы можете представить себе, что означает риск 1 на 10 или даже 1 на 100; но можете ли вы представить 1 на 1000, а тем более 1 на 10 000 или 1 на 100 000? Более того, если риск гибели от рака в течение всей жизни составляет 1 на 4 или 1 на 5, то дополнительный риск 1 на 70 000 от воздействия радиации в дозе 0,3 мЗв кажется, слишком маленьким и с точки зрения индивидуума мы могли бы посчитать его несущественным. Однако даже малые риски могут быть значительными, когда они затрагивают большую группу людей. Ежегодный риск заболевания фатальным раком вследствие облучения от ядерных источников, равный 1 на 70 000, может показаться не очень высоким, но если его умножить на все население Великобритании, то это приведет к дополнительным 700 смертям в год. Такие расчеты следует делать с осторожностью, поскольку мы умножаем малую и неопределенную величину (риск от рака) на большое и вполне определенное число (население Великобритании). Тем не менее, мы должны различать риск для индивидуума и риск для общества в целом.

• *Второе важное замечание о цифрах в таблицах состоит в том, что они являются средними.*

Например, риск 1 на 10 000 от гибели на дорогах является средним для всей популяции и включает всех – от грудных детей до глубоких стариков. Но если мы рассчитаем риск только для водителей, в этой средней величине скрывается факт, что риск зависит от того, являетесь ли вы осторожным водителем, который всегда использует нужные скорости, или лихачом. Аналогичным образом средний риск радиационного рака маскирует ряд различий: некоторые люди (например, живущие возле Селафилда) получат более высокие дозы от ядерных источников и, как мы видели в гл. 8, для некоторой части популяции (например, детей) риск заболевания раком при данной дозе радиации будет выше.

• *Первые два замечания касаются всех рисков в таблицах.*

Но есть ли какие-то аспекты, по которым радиационный риск отличается от остальных рисков? Одно важное различие состоит в том, что риски, обусловленные всеми другими причинами, кроме радиации, основаны на действительном количестве смертей; в отличие от них вычисление радиационного риска является предполагаемым, основанным на факторе риска дополнительных фатальных раков, обусловленных воздействием радиации. (На этот факт указано в таблице НКРЗ Великобритании: там есть такая ссылка "Рассчитано, а не наблюдалось".) Существуют неопределенности, связанные с этим фактором риска, частично обусловленные трудностями экстраполяции кривой "доза – эффект" и частично тем, какая принимается модель абсолютного или относительного риска. Фактор риска может быть таким малым, как, например, 3, но существуют также специалисты, которые считают малыми такие высокие факторы риска, как 7 или 8. Кажется невероятным, что фактор риска фатального рака имеет ошибку, большую, чем фактор риска, равный 3, как, например, в случае исследования рабочих, описанном в гл. 11, где доверительный интервал для фактора риска имеет верхний предел в 3 – 4 раза выше по сравнению с новым фактором риска МКРЗ (1990). Но предположим, что риск был занижен в 3 раза. Тогда риск от облучения дозой 1 мЗв в год станет больше, чем риск гибели в дорожных авариях, и для рабочих радиационной промышленности, которые получают средние дозы 1,1 мЗв, риск становится больше, чем таковой в строительстве, и почти такой же, как на угольных шахтах.

• *Необходимо различать риски, которые люди выбирают сами, ириски, которые навязывают власти или правительства.*

Человек может решить, водить машину или заниматься опасными видами спорта, такими, как альпинизм или бобслей, но не захочет подвергаться облучению. Кажется, что это различие действительно существенное, хотя и не всегда. В основном наш выбор определяется природой общества, в котором мы живем. Рассмотрим снова риски поездок в автомобиле. Есть много профессий, в которых такие поездки необходимы. Правда, человек может и не выбрать такую профессию; но в условиях безработицы не всегда можно выбрать такую работу, которая не требует поездок на автомобиле. Еще менее реально найти работу, не связанную с каким-либо другим дополнительным риском. В любом случае, например в гибели на дорогах, у пешеходов еще меньше возможности избежать гибели или травмирования, а тем более у детей. В некоторой степени риски дорожных аварий являются вынужденными для общества и могли бы быть значительно уменьшены путем снижения допустимых скоростей и более строгими мерами, принимаемыми к водителям.

Что такое приемлемый риск?

Ясно, что существует множество допущений, которые необходимо иметь в виду при чтении информации в предыдущих таблицах. Тем не менее, следует принимать решения о том, строить ли атомные станции, менять ли пределы допустимых скоростей и т.д. При всех этих решениях можем ли мы использовать ежегодный риск гибели в качестве способа сравнения опасности и принятия

решений? Другими словами, можем ли мы решить, какой уровень риска является приемлемым?

Общество, казалось бы, примирилось с риском гибели на дорогах, равным 1 на 10 000, хотя в результате этого в Великобритании в год погибает 5000 человек; но будет ли приемлем риск 1 на 1000? Очень не просто провести разграничение между уровнями риска, которые являются универсально приемлемыми и неприемлемыми. Однако в докладе Королевского общества недавно сделан вывод, что можно обозначить индикаторы приемлемости риска. Ежегодный риск гибели 1 на 100, конечно, неприемлем, в то время как риск 1 на 1 000 000, очевидно, достаточно низок, чтобы быть обычным (хотя это равно риску быть казненным на электрическом стуле!). Как мы говорили ранее, приемлемость риска для каждого человека частично зависит от выгоды, получаемой им, и от того, выбран ли этот риск данным лицом в качестве приемлемого. Для рабочего, подвергающегося профессиональной опасности, ежегодный риск гибели, даже такой высокий, как 1 на 1000, может быть вполне приемлемым, если он вознаграждается. Вместе с тем население может быть не готовым принять ежегодный риск более чем 1 на 100 000 от влияния окружающей среды, находящегося вне его контроля.

Риск гибели или количество потерянных лет

До сих пор мы сравнивали риски, используя простой показатель – ежегодный риск гибели. Правильно ли так поступать? Многие считают, что сравнение рисков гибели является неудовлетворительным, хотя и не ясно, чем их можно заменить. Мы должны принимать во внимание не только величину рисков – количество смертей, но и природу рисков. Риск гибели при аварии отличается от риска мучительной гибели от рака в течение 20 лет жизни. Можно учитывать число потерянных лет, а не число смертей. В гл. 8 указано, что модель относительного риска предсказывает больше гибели от рака, чем абсолютная модель, но эти смерти происходят преимущественно в пожилом возрасте. Таким образом, если мы примем во внимание число потерянных лет жизни, то не будет таких больших различий между этими двумя моделями. Но здесь есть много сложных моральных аспектов. Является ли медленная смерть от рака более приемлемой, чем внезапная гибель в транспортной аварии? Сочтем ли мы авиакатастрофу более приемлемой, если пассажирами являются пенсионеры преклонного возраста, а не маленькие дети? Это, несомненно, трудные вопросы, на которые нет простых ответов. Достаточно сказать, что это не научные вопросы и поэтому в них последнее слово не за учеными.

Ядерная промышленность и антиядерные группы

Ознакомившись с основными положениями и трудностями оценки радиационных рисков, можно попытаться оценить противоположные утверждения сторонников ядерной промышленности и антиядерных групп. Некоторые различия в акцентах приведены в табл. 17.

Таблица 17

Сторонники ядерной промышленности	*Антиядерные группы*
риски очень малы *дозы от ядерной промышленности малы в сравнении с радиационным фоном* *наиболее информативны средние дозы* *рак – это всеобщее заболевание, и радиационно-индуцированные раки составляют лишь малую долю от общего количества*	*риски недоучтены* *радиационный фон сам по себе очень опасен* *наиболее информативны дозы для критических групп* *возможно, но все они приводят к гибели*

Рассмотрим по очереди эти точки зрения.

• *Риски очень малы...*

В некоторой степени мы уже обсуждали эту точку зрения. До недавнего времени "официальные" факторы риска, опубликованные МКРЗ и НКРЗ Великобритании, были действительно ниже, чем величины, предлагаемые некоторыми антиядерными группами. Однако благодаря недавней переоценке данных по Хиросиме и Нагасаки, достигнуто соглашение о величине факторов риска (хотя некоторые величины, особенно приведенные Гофманом, значительно выше).

Хотя к подобному соглашению стремились, оно привело к тому, что степень точности оценки фактора риска в нем подразумевалась большая, чем в действительности. Например, если НКРЗ Великобритании считает, что фактор риска для фатального раки равен $4{,}5 \times 10^{-2}$ Гр$^{-1}$, то подразумевается (ошибочно), что он равен именно 4,5, а не 4,4 или 4,6. На самом деле он может быть равен даже 10×10^{-2} Гр$^{-1}$ или 0, или иметь отрицательное значение. Существуют данные о том, что все эти значения возможны.

• *Дозы очень малы по сравнению с естественным радиационным фоном...*

Обычно используется аргумент, что небольшое увеличение дозы радиации, которое меньше, чем колебания величин радиационного фона в различных местах Земного шара, должно быть безвредным или, по крайней мере, приемлемым. Этот аргумент сам по себе зависит от двух дополнительных допущений:

- влияние естественного фона на здоровье не существенно;
- дозы облучения от искусственных источников радиации определены правильно.

Рассмотрим эти два предположения в отдельности.

Количество раковых заболеваний, которые могли бы быть вызваны естественным фоном, определить трудно. Изучение частоты рака проведено в районах мира с необычайно высоким радиационным фоном и явного влияния радиации не выявлено. Поскольку рак – заболевание общее, небольшое увеличение, вызванное радиацией, выявить трудно. Мы ищем маленький "сигнал" в ог-

ромном "шуме", пытаясь понять, что говорит человек по телефону, когда на линии полно "криков". Если существует влияние радиационного фона на частоту рака, то нужны обширные исследования, чтобы это установить.

Что можно сказать о втором предположении? Правильно ли вычислены дозы облучения от искусственных источников радиации? Для вычисления радиационных доз от искусственных источников используются сложные модели. Эти модели содержат много предположений и неопределенностей. Вычислить дозы от таких источников, как калий-40, находящийся во всем теле, относительно легко. Количество калия-40 остается почти постоянным, и мы можем измерить активность с помощью счетчика для всего тела. Однако вычисление радиационной дозы от таких источников, которые испускают альфа-частицы и электроны Аугера, зачастую более сложно. Существует мало данных по индукции рака радиацией с высокой ЛПЭ. Вычисления рисков от воздействия актинидов, таких, как плутоний и америций, особенно трудно. Например, невозможно прямо измерить содержание плутония во всем теле, а пути его метаболизма в организме сложны и изменчивы.

Еще одно важное замечание относительно радиационных доз. Как мы видели, дозы радиации в различных частях тела (зачастую рассчитанные с помощью сложных моделей) обычно объединяются в одну цифру – *эффективную эквивалентную дозу.* Это помогает избежать неопределенностей, заключенных в сочетании различных типов воздействия радиации.

• *Средняя доза или критические группы...*

В отношении этого вопроса антиядерные группы, кажется, имеют хороший аргумент. Как отмечалось, средняя величина скрывает в себе множество вариаций. Но она зависит также от того, какая модель принята для выяснения взаимосвязи между дозой и риском рака. Поскольку линейная беспороговая модель включает даже нулевую дозу, то средняя доза не позволит нам определить, как много фатальных раков появится, так как:

число фатальных раков = число облученных х средняя доза х фактор риска.

Вместе с тем, если эта модель не верна и порог существует, средняя доза не даст нам достаточной информации, поскольку важным здесь является количество человек, получивших дозы выше пороговых. В такой ситуации критические группы будут, очевидно, более значимыми!

Если линейная беспороговая модель правильна, у нее есть некоторые интересные и забавные следствия. После Чернобыльской аварии молоко в Швеции, как и во многих других странах, было загрязнено йодом-131. Фермеры обратились к правительству с вопросом: могут ли они разбавлять радиоактивное молоко не радиоактивным для уменьшения концентрации йода-131 ниже допустимого уровня и затем продавать его? К сожалению, если линейная беспороговая модель верна, это действие не уменьшит общего риска. Индивидуальная радиационная доза уменьшится, но число людей, подвергнутых такому воздействию, увеличится (из-за увеличения объема загрязненного молока), и поэтому результат, выражающийся в количестве фатального рака (число облученных людей х среднюю дозу) останется тем же!

• *Рак – это общее заболевание...*

Это трудный вопрос. Как отмечалось, при воздействии малых доз мы не можем предсказать число смертей от рака, поскольку нет различий между раком, вызванным или не вызванным радиацией. Однако тот факт, что мы не можем выявить раки, индуцированные радиацией, не делает их более приемлемыми. Возможно, с увеличением знаний о том, как возникают в ДНК изменения, ведущие к возникновению рака, мы сможем сказать, вызван ли тот или иной конкретный случай рака воздействием радиации или нет. Если это станет возможным, то, конечно, сравнение радиационно-индуцированной гибели от рака с частотой заболеваний, вызванных естественными причинами, станет обоснованным: если моральные аспекты важнее, чем технологический прогресс, решение должно основываться на аргументах морали.

Анализ цена – польза

До сих пор мы концентрировали внимание главным образом на обсуждении размеров рисков и на том, какой риск является приемлемым. Но существует еще другое важное дополнение к аргументу, о котором вскользь упоминалось ранее. Когда мы говорили, какой уровень риска приемлем, мы указывали, что частично это зависит от того, выбран ли этот риск конкретным человеком и какую пользу ему принесет. Вы можете решить заняться альпинизмом и принять заключающийся в этом риск, поскольку здесь есть польза – ваше удовлетворение. Иногда мы используем анализ риск – польза. Вы взвесили риск и пользу и решили, что польза превышает риск. Анализ риск – польза применяется при решении широкого ряда проблем. Более официально используется анализ, называемый цена – польза, в котором все факторы рассматриваются с точки зрения их финансовой стоимости.

Анализ цена – польза на транспорте

Рассмотрим пример. Если бы все главные дороги обогревались с ноября по март, не было бы зимой на дорогах никакого льда и, как следствие, (предположительно) было бы меньше аварий и меньше смертей на дорогах. Цена этого мероприятия была бы, конечно, огромной. Абсолютно ясно, что финансовая стоимость намного превзойдет пользу от спасенных жизней – и такой расчет имеет значение, если можно оценить стоимость жизни с помощью экономической величины. Менее крайний пример – вопрос о допустимых скоростях на дорогах США. В 1973г. вследствие арабо-израильской войны и связанного с ним подорожания нефти установлен предел скоростей в 55 миль в час. Подсчитано, что это уменьшило число смертей в дорожных авариях на 7000 в год *(Rossi,* 1985). Можно построить кривую "доза – эффект" между скоростью и частотой аварий и таким образом предсказать, что если предел скорости будет увеличен до 60 миль в час, то число смертей увеличится на 3000 в год. Это аналогично радиационной гибели, в которой нет порога; какую бы мы ни использовали допустимую скорость, это все равно приведет к какому-то количеству летальных исходов. Общество вынуждено балансировать между ценой дополнительной гибели на дорогах и пользой (если она есть) от быстрой езды. Дру-

гими словами, необходимо решать, какой уровень гибели на дорогах является приемлемым.

Анализ цена – польза в медицине

Много интересных иллюстраций к анализу цена – польза можно найти в медицине. Рассмотрим примеры, касающиеся профилактики рака груди. Существует мнение, что женщины, у которых риск развития рака груди достаточно высок, должны в качестве превентивной меры принимать препарат тамоксифен *(Cuzik et al.,* 1986). Милнер с соавторами также согласны, что эта мера разумная, но указывают, что стоимость одного такого ежегодного курса составляет 148 фунтов *(Milker et al.,* 1986). Чтобы предотвратить один случай рака груди, надо истратить 50 000 фунтов (в ценах 1986г.). Они также указали, что есть другие факторы, которые должны быть приняты во внимание. Например, в некоторых случаях такое лечение рака груди не требуется, но чтобы определить группы высокого риска и лечить побочные эффекты, требуются дополнительные затраты. Подобные решения, по мнению Милнера и его коллег, не должны приниматься без детального анализа цена – польза. Второй пример касается использования маммографии, рентгеновского исследования для определения рака груди, который разработан в 60-х годах. В США ввели широкую программу определения рака груди. Несомненно, в результате этого выявлены некоторые ранние опухоли, особенно у женщин после 50 лет. Но в то же время возросла опасность того, что воздействие рентгеновских лучей может вызвать дополнительные случаи рака. Одна из трудностей этого метода заключена в размере рисков. Как мы видели, существует неопределенность, связанная с факторами риска для рака, индуцированного радиацией. В одном исследовании частота вычисленного радиационно-индуцированного рака составила примерно 170 для женщин в возрасте 45 – 49 лет, увеличиваясь до 1000 для 60 – 64-летних *(Law,* 1988). Число индуцированных раков является, конечно, величиной предполагаемой. Кроме того, есть другие риски, которые крайне сложно определить. Например, риск ложного анализа, когда рентгеновское обследование дает отрицательный результат, но впоследствии обнаруживается опухоль. Сходные проблемы возникают при использовании всех скрининговых тестов (тесты для ранней диагностики заболевания). Как сказано в недавнем обзоре, "...Цену и пользу скрининга крайне трудно определить; скрининг иногда может принести больше вреда, чем пользы" *(Mant and Fowler,* 1990).

Анализ цена – польза в связи с радиацией

Все эти примеры различным образом иллюстрируют проблемы анализа цена -польза. Определить все выгоды и риски и связать их с какими-то количественными эквивалентами крайне трудно. В качестве иллюстрации анализа цена – польза ядерной промышленности рассмотрим такой пример. Инспектор сэр Франк Лейфилд в своем докладе делает вывод о том, что индивидуальный максимальный ежегодный риск гибели для проживающих вокруг АЭС *Sizewell-B* меньше, чем 1 на 1 000 000 – на основании возможных радиационных доз и фактора риска МКРЗ. Далее в докладе говорится, что если жизнь оценить в 1

000 000 фунтов ("наивысшая предполагаемая цена жизни"), то трудно решить, стоит ли тратить дополнительно 500 000 фунтов, чтобы еще более уменьшить риск для населения от АЭС *Sizewell-B (Layfild,* 1986). Расселл и Вебб сравнили стоимость сохранения одного человеко-зиверта в ядерной промышленности от 5000 до 3,3 миллионов фунтов – с относительно низкой ценой сохранения одного человеко-зиверта при использовании рентгеновских лучей в медицине. Риски от медицинской диагностики с помощью рентгеновских лучей могли бы быть уменьшены вдвое с помощью повсеместного использования современной технологии при стоимости примерно 100 фунтов в год на человеко-зиверт *(Russel and Webb,* 1986, *Russel,* 1986). В обоих случаях существует некоторая неопределенность в размерах риска. Разница между этими примерами заключается в различных мнениях о величинах риска и пользы – нужна ли нам АЭС *Sizewell-Bl.* Может быть, лучше использовать ископаемое топливо или возобновляемые источники энергии? Или постараться экономить и использовать меньше энергии?

Есть ли альтернатива для анализа цена – польза?

Существуют серьезные возражения против использования анализа цена – польза для принятия решений. Одно из них – трудность в определении стоимости человеческой жизни, хотя это должно быть сделано, например, для случаев компенсации при промышленных травмах. Есть люди, которые считают, что в связи с этими трудностями анализ цена – польза полностью не приемлем. Хотя это и аргументированная точка зрения, конечно, неразумно полностью отказываться от анализа цена – польза для воздействия радиации, в то время как он широко применяется во многих других сферах, таких, как транспорт и медицина.

Какой ответ?

Все, обсуждаемое до сих пор, указывает на то, что в этой проблеме нет простых ответов, и вы должны относиться скептически, если кто-то говорит, что они есть. Но даже если мы можем обойтись без простых ответов, то существует соблазн – и ученые часто виновны в этом – свести очень сложные комплексные вопросы, часто включающие трудные моральные аспекты, к небольшому набору величин или даже к одной величине, на основании которой можно принять решение. Дискуссия по этим проблемам должна учитывать неопределенности, заключающиеся в используемых величинах (таких, как факторы риска); и привлекаемые эксперты также должны учитывать, что существует важный моральный аспект, который нельзя свести к цифрам и который может находиться вне зоны их компетенции. Члены МКРЗ могут быть радиационными экспертами, но они не обязательно сильны в морали.

Знание о радиации – идеология и конспирация

В начале своей книги об атомных станциях Уолт Паттерсон пишет: "Никогда не принимайте одну точку зрения как Евангелие, включая и мою" *(Patterson,* 1986). Наиболее важно по этой проблеме читать разные источники и

больше научных статей, чем популярной литературы. Поскольку существуют данные, а интерпретация многих из них противоречива, то эта проблема подвержена влиянию идеологии писателя – набор предположений и идей, многие из которых сомнительны, могут формировать точку зрения. Мы, конечно, не застрахованы от этого. Надо отдавать себе отчет в том, что в области малых доз радиации идеология может проявляться как в том, какие доказательства выбирает автор, так и в том, на каких аспектах этого доказательства он делает акцент. Например, два письма в журнал *The Lanzet (Cutler,* 1984, *and craft et al.,* 194)цитируют одну и ту же статью *(Court Brown et al.,* 1960) для доказательства противоположных точек зрения.

Некоторые думают, что многие ученые имеют "особый взгляд" на радиацию, который согласуется с нуждами ядерной промышленности, что существует конспирация, как и ранее, которая скрывает правду о радиационных рисках. Мы не верим, что это правда. Позиция большинства ученых определяется в большей степени осторожностью и консерватизмом. Предположим, что группа ученых объявила бы, что они проделали эксперимент, результаты которого не согласуются с теорией относительности Эйнштейна. Другие ученые отнеслись бы скептически, поскольку теория относительности доказана во многих других экспериментах. Вероятно, научное сообщество согласилось бы с тем, что новые результаты – это только "ложная тревога"; мнение изменилось бы в том случае, если бы результаты были воспроизведены неоднократно, и если можно было бы показать, что эти результаты никак не совместимы с теорией Эйнштейна.

Сила науки заключается в том, что ее теории постоянно критически обсуждаются и подвергаются строгим экспериментальным проверкам, а слабость в том, что наука не всегда готова отказаться от привычной теории перед лицом неподходящих доказательств. Исследовать радиационные эффекты особенно трудно, потому что мы не можем позволить себе роскошь повторных экспериментов, чтобы подтвердить или опровергнуть теорию. Ограниченные доказательства, которые могут быть интерпретированы различным способом, всегда дают пищу для противоречий.

Радиационные риски в перспективе

Хотя существует много неопределенностей в вычислении радиационных рисков, важно оценить значение этих рисков в перспективе. Нет явных свидетельств того, что малые дозы радиации являются главной проблемой для здоровья, поскольку главные проблемы это курение, алкоголь или дорожные происшествия. Если даже предположение Романа с соавторами *(Roman et al.,* 1987) правильно, т.е. 30 детей в Англии умерли от лейкемии, индуцированной радиоактивными выбросами за последние 20 лет, можно сравнить с гибелью 10 000 детей в той же Англии, которые погибли за тот же период времени в дорожных авариях.

Кроме того, мы не должны упускать из виду тот факт, что, несмотря на значительное улучшение западно-восточных отношений, одной из самых важных проблем, стоящих перед лицом человечества, является использование ядерного оружия. Даже принимая самые высокие цифры гибели, обусловлен-

ной малыми дозами радиации от ядерной промышленности, необходимо признать, что число смертей, ожидаемых в следующем столетии, намного меньше, чем количество людей, которые могут погибнуть за несколько минут, если будет сброшена атомная бомба. Хотя выбросы АЭС и малые дозы радиации важны, их приоритет меньше по сравнению с предотвращением ядерной войны.

Адаптивный ответ

Радиоадаптивный ответ в клетках животных и человека

Адаптивный ответ – защитная реакция биологических объектов при воздействии на них повреждающего фактора в незначительных дозах или концентрациях. В этом случае возникает резистентность к повторному воздействию, но уже в высокой повреждающей дозе. Таким способом, как правило, и выявляют наличие адаптивного ответа. Адаптивная реакция прослеживается по всем общепринятым критериям оценки повреждаемости генетического аппарата клеток, таким как образование хромосомных аберраций, генных мутаций, микроядер и т. д. По сложившейся к настоящему времени терминологии первую незначительную дозу, стимулирующую развитие адаптивного ответа, принято называть адаптирующей. Высокую дозу, используемую при повторном воздействии, называют повреждающей, выявляющей или разрешающей. В англоязычной литературе принято обозначать адаптирующее воздействие «conditiong dose», а повреждающее «challenging dose».

Специфичной особенностью радиационно индуцированного адаптивного ответа (РАО) является значительная, порой более чем на несколько порядков разница в величинах адаптирующего и повреждающего воздействия. Зачастую, первая доза не вызывает регистрируемых нарушений, но при дополнительном облучении высокой дозой наблюдается значительное снижение выхода радиогенетических повреждений, по сравнению с однократным острым облучением суммарной дозой. Еще одной характерной особенностью является неспецифичность в отношении характера адаптирующего воздействия. Реакция АО может развиваться как под действием малых доз радиации, так и в результате теплового шока, действия химических мутагенов и др. Причем, защитный эффект прослеживается и при использовании в адаптирующем и повреждающем качестве разнородных факторов.

Таким образом, можно сделать предположение, что адаптивный ответ это специфическая общая реакция клеток, возникающая в ответ на незначительное повреждающее воздействие стресорного типа. Биохимическая природа адаптивного ответа до сих пор окончательно не ясна, но большинство исследователей предполагают участие в реакции АО группы белков с репаративными функциями.

Впервые адаптивный ответ был показан в 1977 году в экспериментах Сэмсона и Кэрнса по изучению влияния алкилирующих соединений на клетки E. coli. [1 Samson L., Cairns J. // Nature. 1977. V. 267. № 5608. P. 281-283]. Про-

изведя оценку по критериям выживаемости и выхода мутаций, авторы показали, что инкубация бактерий в среде с внесенным в концентрации 1 мкг./мл. N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидином формирует резистентность к повторному воздействию этого мутагена в концентрации 100 мкг./мл. При пересадке обработанных малой дозой мутагена бактерий на чистую среду, устойчивость к большой концентрации сохранялась на протяжении четырех часов культивирования. Также было отмечено, что ингибитор белкового синтеза хлорамфеникол снимает проявление защитной реакции. Эта закономерность указывала на связь реакции АО с функционированием генов, обеспечивающих экспрессию соответствующих белковых продуктов.

Дальнейшие исследования на прокариотах показали активацию репарационной системы при формировании адаптивного ответа. При изучении АО, возникающего под действием предобработки малыми концентрациями алкилирующих соединений, были определены ответственные за реакцию гены. По некоторым генам удалось провести секвенирование и установить первичную структуру белковых продуктов. Следует отметить что синтез соответствующих ферментов не был связан с известными системами репарации. [2-4][Газиев А.И. // Радиобиология. 1986. Т. 26. Выпуск 4. С. 447-452.][Volkert M.R. // Environ. Mol. Mutagen. 1988. V. 11. №2. P. 241-255.][Lindahl T. // Ann. Rev. Biochem. 1988. V. 57. P. 133-157]

Существование адаптивного ответа в клетках млекопитающих было показано в начале 80-ых годов. В опытах [5][Samson L., Schwartz J.L. // Nature. 1980. V. 287. №5785 P. 133-157] анализировали изменение частоты сестринских хроматидных обменов и выживаемости при обработке алкилирующими соединениями клеток CHO и фибробластов кожи человека, трансформированных вирусом SV 40. Разница между адаптирующей и повреждающей концентрациями достигала 100 раз. Авторы показали наличие адаптивного ответа и зависимость реакции от соблюдения определенного временного интервала, не более 2-6 часов. В работе [6][Riger R., Michaelis A., Nicoloff H. // Mutat. Res. 1984. V. 140. №2/3. P. 99-102.] показано, что в присутствии ингибиторов белкового синтеза, в частности циклогексамида, адаптивный ответ в клетках животных не проявляется. АО в клетках животных и человека под действием химических мутагенов показан по критериям выживаемости, снижения частоты генных мутаций, аберраций хромосом в работах [8,9] [Kaina B. // Mutat. Res. 1982. V. 93. №1. P. 195-211.] [Sanderson B.J., Morley A.A. // Mutat. Res. 1986. V. 164. №6. P. 347-351].

Хотя механизм адаптивного ответа в клетках животных изучен пока недостаточно, предполагается важная роль ферментов репарации [10,11][Montesano R., Bresil H., Margison G.P. // Cans. Res. 1979. V. 39. №5. P. 1798-1802.] [Lefebre P., Laval F. // Cans. Res. 1986. V. 46. №10. P. 5701-5705].

В растительных клетках адаптивный ответ был показан при изучении влияния кластогенных соединений [12][Riger R., Michaelis A., Nicoloff H. // Biol. Ztbl. 1982. V. 101. №1. P. 125-138.]

Обобщая вышеизложенное, можно отметить, что к первой половине 80-ых годов адаптивный ответ под действием химических мутагенов был показан

на клетках прокариот, животных и растений по большинству важнейших критериев оценки повреждаемости генетического аппарата.

Адаптивный ответ при действии ионизирующей радиации был показан Оливьери с соавторами в 1984 году. Адаптирующее воздействие производили путем инкубации лимфоцитов в присутствии 3Н-тимидина (0,01-0,1 мк Ки/мл.). Повреждающая доза составила 1,5 Гр. Анализ проводился по частоте выхода хромосомных аберраций. В случае фракционированного облучения эффект оказался гораздо ниже, чем однократное облучение соответствующей суммарной дозой. [13][Olivieri C., Bodycote J., Wolff S. // Science. 1984. V. 223. №4636. P. 594-597]. Полученный эффект был аналогичен выявленному ранее при помощи химических мутагенов адаптивному ответу на клетках животных, бактерий и растений.

Существование радиоадаптивного ответа было подтверждено на лимфоцитах человека по частоте возникновения различных перестроек хромосом [13-16][Olivieri C., Bodycote J., Wolff S. // Science. 1984. V. 223. №4636. P. 594-597][Shadley J.D., Afzal V., Wolff S. // Radiat. Res. 1987. V. 111. №3. P. 511-517] [Wolff S., Afzal V., Wiencke J.K. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1988. V. 53. №1. P. 39-48][Shadley J.S., Wiencke J.K. // Int. J. Radiat. Biol. 1989. V. 56. №1. P. 107-118], в микроядерном тесте [17,18][Ikushima T. // Mutat. Res. 1987. V. 180. №2. P. 215-221][Ikushima T. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №2. P. 241-246], по выходу генных мутатций.[9][Sanderson B.J., Morley A.A. // Mutat. Res. 1986. V. 164. №6. P. 347-351]. Как правило, при одновременной оценке радиоадаптивного ответа по нескольким критериям на одном объекте, эффекты корелировали.

Помимо лимфоцитов человека радиоадаптивный ответ был обнаружен и на других клетках животных: на сперматоцитах и костном мозге мышей[19] [Cai L., Liu S-Z. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 187-194], в клетках китайского хомячка V-79 [17,18][Ikushima T. // Mutat. Res. 1987. V. 180. №2. P. 215-221][Ikushima T. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №2. P. 241-246], на лимфоцитах кролика [19] [Cai L., Liu S-Z. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 187-194].

На сперматоцитах мышей и клетках костного мозга радиоадаптивный ответ показан в интервале адаптирующих доз от 10 до 100 мГр. (1-10 Р.) при промежутке между адаптирующей и повреждающей дозой 2,5-3 часа [19] [Cai L., Liu S-Z. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 187-194].

На растительных объектах радиоадаптивный ответ был показан в работах [20,21] [Heindorff K., Riger R., Michaelis A., Takehisa S. // Mutat. Res. V. 190. №1. P. 131-135.] [Cortes F., Dominguez L., Mateos S et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 57. №3. P. 537-541].

Степень проявления радиоадаптивного ответа существенно зависит от величены адаптирующей дозы. Так в работе [18] [Ikushima T. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №2. P. 241-246] на клетках китайского хомячка V-79 по микроядерному тесту показано, что при использовании для предварительной обработки 3Н-тимидина зависимость РАО от величины адаптирующей дозы может быть описана кривой, приближающейся к точке максимума и затем убывающей.

По данным [19] [Cai L., Liu S-Z. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 187-194] зависимость величины радиоадаптивного ответа от дозы предварительного облучения в клетках костного мозга мышей может быть представлена в виде прямой [рисунок].

Наличие оптимальной адаптирующей дозы, превышение которой уменьшает проявление радиоадаптивного ответа, отмечено в работах [13] [Olivieri C., Bodycote J., Wolff S. // Science. 1984. V. 223. №4636. P. 594-597] [22] [Wiencke J.K., Afzal V., Olivieri G., Wolff S. // Mutagenesis. 1986. V. 1. №2. P. 375-380].

В работе [16] [Shadley J.S., Wiencke J.K. // Int. J. Radiat. Biol. 1989. V. 56. №1. P. 107-118] анализировалась зависимость выхода хромосомных аберраций в лимфоцитах человека от мощности дозы. Показано отсутствие влияния изменения мощности повреждающей дозы. Что касается адаптирующего воздействия, то пои величине предварительного воздействия 0,5 Гр. радиоадаптивный ответ был наиболее выражен при мощности дозы 0,005 Гр/мин, а при дальнейшем увеличении мощности постепенно снижался вплоть до полного снятия радиоадаптивного ответа при мощности дозы 0,05 Гр/мин. [график]. При использовании адаптирующей дозы 0,1 Гр. наблюдалась другая зависимость. Радиоадаптивный ответ был слабо выражен при низкой мощности, но увеличивался при ее повышении [график]. Таким образом, можно сделать вывод, что для оптимального проявления радиоадаптивного ответа наиболее эффективно при адаптирующем облучении относительно высокими дозами использовать низкую мощность, а при воздействии более высокой адаптирующей дозы – низкую мощность.

К этому же заключению пришли в работе [14] [Shadley J.D., Afzal V., Wolff S. // Radiat. Res. 1987. V. 111. №3. P. 511-517], при изучении радиоадаптивного ответа по выходу структурных повреждений хромосом в лимфоцитах здоровых и больных атаксией телеангиэктазией людей. В этой же работе отмечено, что наиболее оптимальный промежуток времени между двумя облучениями составляет 5-6 часов. При уменьшении времени между облучениями происходит снижение выраженности радиоадаптивного ответа. Что касается сдвига в сторону увеличения времени между облучениями, то здесь показано сохранение способности клеток к радиоадаптивному ответу в течении десятков и более часов.

В ряде работ показано, что степень выраженности радиоадаптивного ответа может сильно колебаться у отдельных индивидуумов. Так по данным [24] [Bosi A., Olivieri G. // Mutat. Res. 1989. V. 211. №1. P. 13-17] на лимфоцитах некоторых здоровых людей радиоадаптивный ответ вообще не регистрировался. Такие же результаты получены в работе [25] [Bauchinger M., Schmid E., Braselmann H., Nahrstedt U. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №1. P. 103-107]

Что касается механизмов развития адаптивного ответа, то до настоящего времени в этом вопросе нет окончательной ясности. В работе [27] [Wolff S., Wiencke J.K., Afzal V. et al // Low Dose Radiation Biology: Bases Data on Risk Assessment. London, 1989. P. 446-454] показано, что формирование адаптивного ответа коррелирует с появлением в клетке новых белков. В других работах показано, что ингибиторы белкового синтеза, такие как циклокгексамид, снимают

реакцию радиоадаптивного ответа [6] [Riger R., Michaelis A., Nicoloff H. // Mutat. Res. 1984. V. 140. №2/3. P. 99-102.]. Характерно, что одни и те же белки образуются при возникновении адаптивного ответа под действием не только радиации и химических мутагенов, но и при воздействии другими разнородными повреждающими факторами: гормонами, тепловым шоком, тяжелыми металлами, окислительным стрессом и т. д. [28] [Akaboshi E., Howard-Flanders P. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №1. P. 1-6.] [29] [Galit J. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 57. №5. P. 981-992]. Таким образом, можно сделать вывод о антистрессовом характере формирования адаптивного ответа под воздействием самых разнообразных повреждающих факторов.

В работах [15] [Wolff S., Afzal V., Wiencke J.K. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1988. V. 53. №1. P. 39-48] [18] [Ikushima T. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №2. P. 241-246] анализировался выход хромосомных и изохромосомных разрывов при комбинированном воздействии вначале облучением адаптирующей дозой, а затем химическими мутагенами. Показано, что адаптивный ответ наблюдается по отношению к блеомецину, вызывающему двухнитевые разрывы ДНК, и митомицину С, вызывающему сшивки типа ДНК-ДНК. Авторы полагают, что накопление определенного количества повреждений такого типа, является одним из механизмов инициации адаптивного ответа. Действие алкилирующих агентов (метил- или этилметансульфоната) снимало проявление адаптивного ответа, а в ряде случаев повышало выход генетических нарушений.

При комбинированном действии в начале в адаптирующей концентрации блеомецином либо перекисью водорода формировался адаптивный ответ к последующему облучению [27] [Wolff S., Wiencke J.K., Afzal V. et al // Low Dose Radiation Biology: Bases Data on Risk Assessment. London, 1989. P. 446-454] [30] [Vijayalaxmi W., Burkart W. // Mutat. Res. 1989. V. 211. №1. P. 1-5]. Данные результаты указывают на возможную роль накопления разрывов ДНК, необходимого для запуска реакции адаптивного ответа.

В работе [18] [Ikushima T. // Mutat. Res. 1989. V. 227. №2. P. 241-246] показано, что обработка облученных в адаптирующих дозах клеток цис-платиной, вызывающей образование сшивок ДНК, снимает проявление адаптивного ответа.

По данным [22] [Wiencke J.K., Afzal V., Olivieri G., Wolff S. // Mutagenesis. 1986. V. 1. №2. P. 375-380] в присутствии бензамида адаптивный ответ не наблюдается. Бензамид – ингибитор фермента АДФ – фосфорибозилтрансферазы, ответственный за репарацию разрывных дефектов ДНК и АДФ – рибозилирование белков. Активность АДФ – фосфорибозилтрансферазы значительно стимулируется при облучении [33] [Berger N. A. // Radiat. Res. 1985. V. 101. №1. P. 4-15].

В работе [34] [Feinendegen L. E., Mühlensiepen H., Lindberg C. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1984. V. 45. №1. P. 205-215] показано, что через 4 часа после облучения мышей дозой 0,01 Гр. происходит снижение активности тимидинкиназы в костном мозге на 40% с постепенным восстановлением исходной активности к 10 часу после облучения. В результате этих процессов наступает временное ингибирование синтеза ДНК, что вероятно, способствует ее репарации.

В работе [31] [Bases R., Hamori I., Piazza L. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 35-54] на клетках CV – 1 показано, что предварительное облучение в диапазонах 0,2 – 6,6 Гр. с последующим облучением в дозе 400 Гр. приводит к снижению выхода модифицированных оснований ДНК, а также апуриновых и апиримидиновых сайтов.

Адаптивный ответ выявлен и при хроническом облучении. Так в работе [35] [Алиева А.А., Ахундов В. Ю., Алекперов У. К. и др. // Радиобиология. 1985. Т. 25. Вып. 1. С. 78-81.] показано, что облучение мышей дозой 0,04 Гр. в течении 70 суток с дальнейшим с дальнейшим однократным облучением в дозе 2,98 Гр. вызывает радиоадаптивный ответ по выходу хромосомных аберраций.

На лимфоцитах селезенки мышей показано, что облучение животных дозой 5 сГр. В течении 4 суток снижает частоту СХО при УФ облучении и стимулирует репарационный синтез ДНК. Адаптивный ответ сохраняется в течении 12 суток [36] [Wojcik A., Tuschl H. // Mutat. Res. 1990. V. 243. №1. P. 67-73].

Адаптивный ответ обнаружен при исследовании лимфоцитов крови людей, из-за условий работы подвергавшихся длительное время облучению в дозах > $14 \cdot 10^{-3}$ сГр. в месяц [37] [Tuschl H., Kovac R., Altmann H. // Health Phys. 1983. V. 45. №1. P. 1-7].

При хроническом облучении мышей в течении 55 суток дозой с мощностью 0,13 Р/ч наблюдается активация ДНК-полимераз в ядрах клеток печени, селезенки и легкого [38] [Кожановская Л.К., Фоменко Л.А., Газиев А.И. // Радиобиология. 1990. Т. 30. Вып. 3. С. 300-303.]

В выше перечисленных случаях реакция адаптивного ответа поддерживалась длительно, как и в работе [19] [Cai L., Liu S-Z. // Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 58. №1. P. 187-194].

Длительное облучение клеток в малых дозах стимулирует их радиорезистентность как к радиации, так и к алкилирующим соединениям. [39] [Rhynas P.O.W., Newcombe H.B. // Exp. Cell. Res. 1960. V. 21. №2. P. 326-331] [40] [Yan T.M., Gregg E.C., Kim S.C. // Radiat. Res. 1979. V. 80. №4. P. 502-511] [41] [Osmak M. // Radiat. Res. 1988. V. 115. №3. P. 609-616].

Байстендер эффект (bystander effect, эффект соседства)

Введение

До последнего времени считалось, что биологические последствия, вызванные воздействием облучения, связаны с эффектом прямого повреждения ДНК. Согласно этой парадигме, эффект прямого повреждения выявляется либо непосредственно во время либо сразу после облучения клеток, и возможные биологические последствия могут быть выражены в рамках одного, двух поколения клеток (Grosovsky, 1999). Ряд данных, которые теперь появились, указывают на более сложные явления, вытекающие из эффекта прямого поврежде-

ния. Эти эффекты, могут быть не связаны уже с облученной клеткой, и включают в себя байстендер эффект, а также вызванную радиоактивным излучением генетическую нестабильность, гиперчувствительность к низким дозам радиации. (Ward, 1999). Отличительная черта этих эффектов – то, что они преобладают при малых дозах облучения.

Байстендер эффект (bystander effect) – явление, при котором клетки, находящиеся вблизи клеток, которые подверглись облучению, ведут себя так, как будто они также подверглись повреждению, причем механизм их поражения до сих пор еще не выяснен. Реакция интактных клеток при облучении соседних – эффект, изучаемый в настоящее время во многих радиобиологических лабораториях мира. До настоящего времени накоплено огромное количество экспериментальных данных, полученных на различных модельных системах, доказывающих наличие эффекта. Эти сведения свидетельствуют о существовании по меньшей мере двух независимых путей передачи сигнала от облученных клеток к необлученным. Однако точная природа такого сигнала пока не определена. В настоящее время дискутируется вопрос о положительном или отрицательном влиянии данного эффекта на возникновение и развитие онкологических заболеваний.

Эффекты соседства при облучении

В последние годы ряд групп продемонстрировали существование вызываемого облучением эффекта соседства, при котором имеют место повреждения в близлежащих необлученных клетках (Nagasawa and Little, 1992; Hickman *et al*., 1994; Deshpande *et al*., 1996; Prise *et al*.,1998). В этих работах предполагают, что эффективное сечение мишеней потока радиоактивных частиц намного больше, чем размер ядра. В ранних работах по данной тематике Нагасава и Литтл (Nagasawa and Little, 1992) клетки культур Chinese hamster облучались альфа-частицами в дозах между 0.03 и 0.25 cGy, так, чтобы только около 1% клеток были подвержены прямому действию облучения. Однако хромосомные повреждения наблюдались более чем у 30% популяции. Таким образом, их данные показали, что повреждение ДНК может быть вызвано в большем количестве клеток, чем в том, которое подверглось облучению. Это было неожиданным и противоречило модели прямого повреждения. В данной статье изменялось представление об устоявшейся классической модели прямого поражения клеток. В течение последующих нескольких лет результаты, полученные в ряде лабораторий, подтвердили данный факт. Новая концепция “эффекта соседства” получила признание. Клеточные реакции, вызванные с помощью этого эффекта, включают в себя индукцию хромосомных аббераций, мутации, смерть клетки, апоптоз (или программируемую клеточную смерть), злокачественную трансформацию и генную нестабильность.

Последующие доклады (Zhou *et al.,* 2000) показали что, (а) клетки, облученные прицельным микропучком альфа-частиц, могут индуцировать мутагенный ответ в близлежащих клетках, не подвергшихся прямому облучению и (б) межклеточное взаимодействие играет основную роль в возникновении данного феномена. Было показано, что облучение 20-тью альфа-частицами каждой

клетки из 20% случайно выбранных клеток гибрида $A_{(L)}$ приводит к увеличению мутаций в 3 раза больше, чем ожидалось, полагая, что данный эффект не существует. Эксперименты, проведенные Аззамом и др. (Azzam *et al*., 2001) показали, что при облучении альфа частицами, происходит подавление таких генов как p53 и p21, вовлеченных в процессы контроля клеточного цикла и индукции апоптоза, и этот процесс можно выразить в нелинейном виде после облучения низкими дозами радиации. Другие исследования по индуцированию клеточной инактивации (Sawant et all., 2001) и генных мутаций (Zhou et al., 2001) продемонстрировали, что подобные результаты вызываются воздействием на 10% или на 100% популяции. Множество исследований эффекта соседства стали возможными благодаря использованию микролучей, позволяющих малому количеству заряда (легких ионов) попасть в единичное клеточное ядро.

Поражение в необлученных клетках может быть объяснено возможностью взаимодействия клеток и передачей информации от одной клетки к другой. Механизмы, используемые клетками для обмена информацией о радиоактивном поражении, до сих пор неясны. Тем не менее, по-видимому, играют важную роль межклеточные коммуникации с помощью щелевидных соединений (узких каналов приблизительно 2 нм в диаметре, которые связывают цитоплазмы двух смежных клеток и способствует диффузии мелких молекул), и клеточное сигнализирование может быть вызвано (по крайней мере, в некоторых случаях) химически активными радикалами кислорода (ROS), вызванными действием ионизирующего излучения.

Интерпретация эффекта соседства может быть различной с точки зрения ожидаемого конечного результата. Если за параметр берется индукция трансформаций и/или мутаций (Nagasawa and Little,2001, Zhou et al.,2001), это может служить доказательством того, что опасность низких доз облучения выше, чем риск, вытекающий из зависимости «доза-эффект».

Как следствие, большое внимание должно уделяться оптимизации процесса воздействия радиоактивного излучения в порядке предупреждения неоправданного облучения, которое может быть вреднее, чем предполагалось прежде. Напротив, возрастающее количество апоптозов (Belyakov et al., Prise et al., 2000) предполагает возможный защитный эффект, принимая во внимание, что потенциально пораженные клетки элиминируются из выжившей популяции.

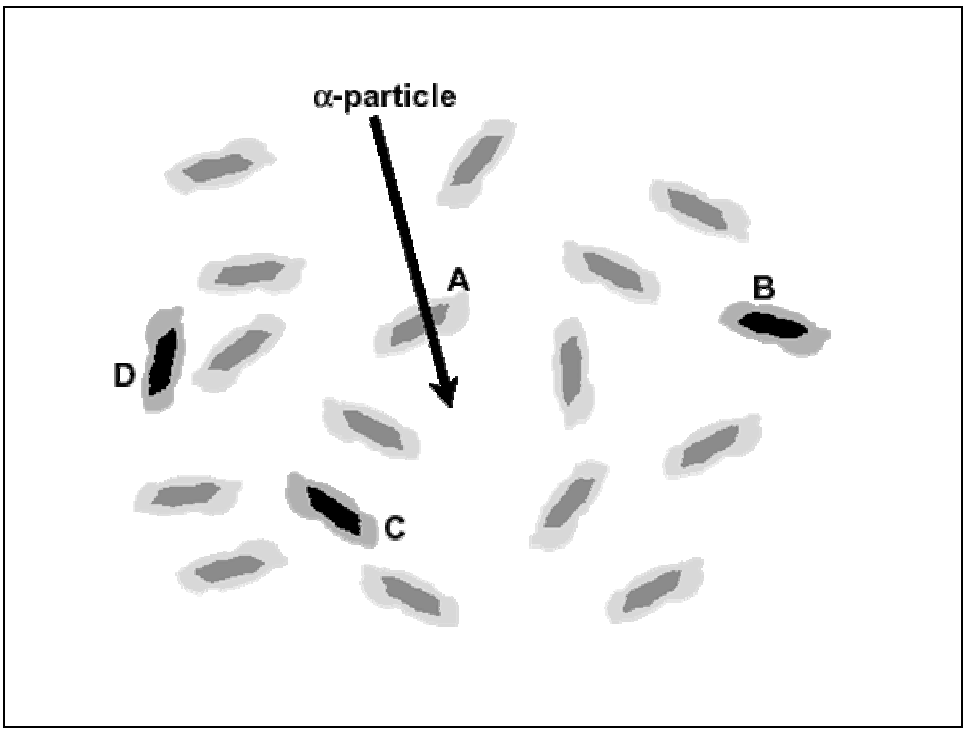
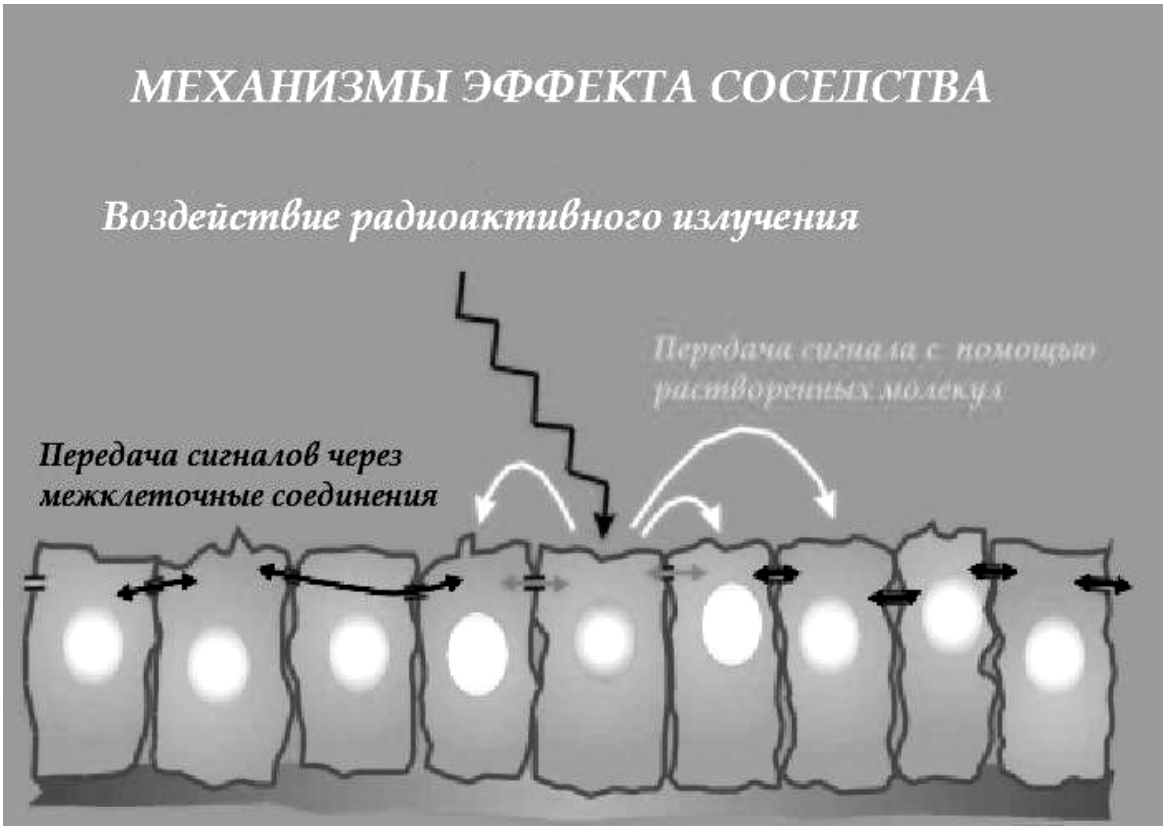


Рис. №1 Демонстрация эффекта соседства при воздействии радиации: одиночная альфа частица проходит через клетку A, передавая ей дозу радиации. Это в свою очередь приводит к повреждениям в клетках B, C, D, хотя доза прямого воздействия для данных клеток равнялось нулю.

Какой же механизм эффекта соседства?



Как было обнаружено, байстендер эффект встречается в различных клеточных системах и включает в себя несколько различных механизмов. В некоторых системах, где есть прямой контакт клеток, есть данные, что сигнал передается через щелевидные соединения между клетками. В системах, где нет прямого контакта, взаимодействие происходит косвенным путем, с помощью биологических веществ. Имеются данные, что в процесс вовлекаются цитокины, которые выделяются клетками и играют специфическую роль в межклеточном взаимодействии. Другие данные указывают на роль активных кислородных радикалов в процессах. Большинство информации было получено при исследованиях *in vitro* и возрастает необходимость в исследованиях эффекта соседства *in vivo* или на моделях тканевых систем.

Как сравнить байстендер эффект и эффект прямого повреждения?

Данные, полученные при изучении эффекта соседства, указывают на значительную разницу между эффектом соседства и эффектом прямого повреждения. Схематически на рис. №2 приведены для канцерогенных преобразований *in vitro* вклад эффекта прямого повреждения, эффекта соседства и их сумма.

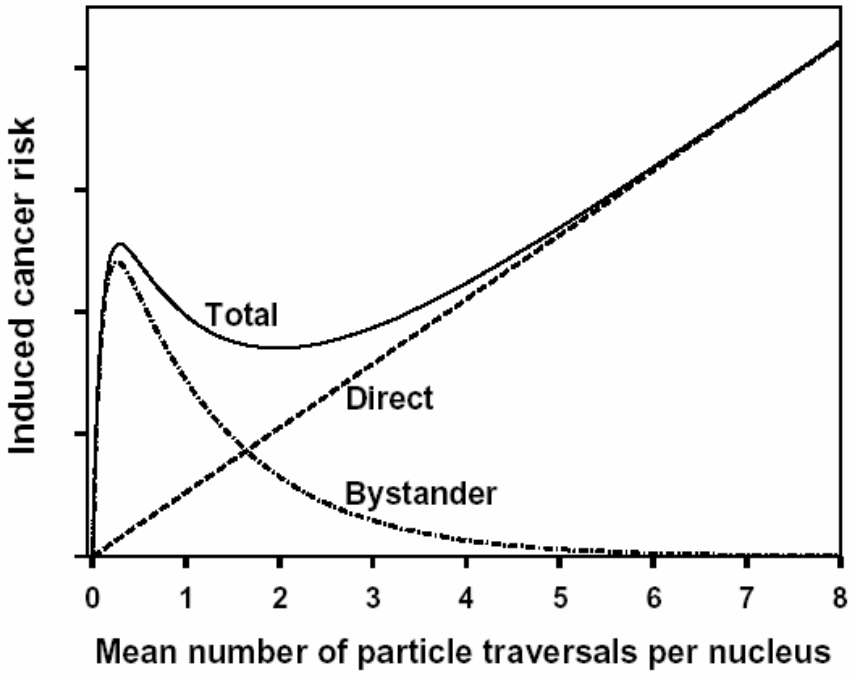


Рис. №3 Схема удельных вкладов эффекта соседства и эффекта прямого повреждения в общее значение риска забоваления раком.

При достаточно высоких дозах эффект прямого повреждения убивает все клетки в облученной популяции. В этом случае вклад эффекта соседства незначителен и степень риска заболевания прямо пропорциональна плотности облучения. С другой стороны, байстендер эффект наблюдается при облучении малой части клеток и повреждения обнаруживаются среди тех клеток, которые даже не подвергались воздействию. Обычно от 1 до 30 процентов необлученной фракции клеточной популяции могут обнаруживать повреждения вызван-

ные эффектом соседства. В этом случае байстендер эффект преобладает над эффектом прямого повреждения.

При прямом повреждении процент погибающих клеток прямо пропорционален дозе, а при эффекте соседства наблюдается низкий порог дозы, за которым клеточный ответ представляет плато – дальнейшее повышение дозы не вызывает увеличения количества поврежденных клеток.

Существуют две основные теории, объясняющие наличие плато. Одна из них – есть уже существующая доля клеток в популяции, которая чувствительна к сигналам об облучении соседних клеток. А вторая – то, что вся популяция клеток отвечает на сигналы, но также одновременно генерирует подавляющий сигнал, который ограничивает ответ определенной фракцией клеток.

Есть две основных области, где байстендер эффект может играть важную роль. Первая связана с риском облучением низкими дозами естественного радиоактивного фона. Условная оценка облучения показывает, что естественный радиоактивный фон является причиной 3% всех случаев злокачественных опухолей, но является ли это преувеличением либо недооценкой – это частично зависит от предположений о биологическом действии на единичные клетки.

Байстендер эффект также может иметь значение при некоторых видах лучевой терапии. Например, при лечении рака точечное воздействие радионуклидов не всегда может достигнуть цели, и тогда необлученные клетки опухоли поражаются с помощью его механизмов.

Эффекты соседства, вызванные различными видами излучения:

Байстендер эффект в клетках, вызванный воздействием альфа-частиц:

Было признано, что альфа-частицы, пересекая ядро клетки и повреждая ДНК, вызывают генетические нарушения. Данные повреждения ДНК могут вызвать мутации или хромосомные абберации в дочерних клетках. Эксперименты, проводимые Нагасавой (Nagasawa) и Литтлом (Little) в 1992 году, показали, что область генетических изменений, вызванных эффектом соседства, в 9-350 раз больше, чем область непосредственного поражения. Механизмы данного эффекта, вызванного воздействием облучения альфа-частицами, до сих пор остается неясным. Тем не менее, предполагают, что щелевидные соединения между клетками участвуют в его распространении после действия низких доз облучения альфа-частицами.

Байстендер эффект в клетках вызванный воздействием бета-частиц:

В работе Бишаи (Bishayee et al, 1999) был продемонстрирован байстендер эффект в многоклеточной модели с помощью группы клеток, помеченных тритиированным тимидином ([3H]dThd). Малая область распространения бета-частиц ^{3}H вызывает лишь поражение меченых клеток, а немеченые клетки не повергаются воздействию излучения. Однако в результате, немеченые клетки также оказываются пораженными. Щелевидные соединения между клетками вовлекаются в байстендер эффект, который имеет место до тех пор, пока линдан (γ-изомер гексахлороциклогексана), ингибитор межклеточных процессов, осуществляемых через щелевидные соединения, не проявит защитный эффект.

Байстендер эффект в клетках вызванный воздействием гамма-частиц:

Микроколонии, подвергнутые гамма-излучению, выживают или погибают как единое целое. Закрытие каналов щелевидных соединений задерживает этот эффект. Таким образом, предполагается, что байстендер эффект реализуется через щелевидные соединения между клетками. Ингибиция межклеточных коммуникаций неблагоприятно влияет на репарационные механизмы в клетках, следующие за действием ионизирующей радиации. Соответственно, байстендер эффект опосредован с разделением молекул, вовлекаемых в процессы репарации.

В других экспериментах (Mothersill et Seimour, 1997) вещества цитоплазмы из облученых гамма-лучами эпителиальных клеток человека оказывали влияние на необлученные клетки.

Рассматривая факторы, изменяющие результаты биодозиметрии, нельзя не остановиться на явлении передачи повреждений от облученных клеток необлученным, в результате которого биологические, и в том числе генетические эффекты не соответствуют поглощенной дозе радиации. На современном этапе развития науки доказано, что информация от облученных клеток передаётся необлученным – при этом клеточные повреждения (хромосомные аберрации, апоптоз, микроядра, мутации и т.д.) наблюдаются в необлученных клетках, находящихся рядом с облученными. Данное явление получило название «bystander effect».

Об этом эффекте было сообщено в 1954 году Парсонсом [63], который показал, что у детей, подвергавшихся облучению селезенки для лечения лейкемии, наблюдалось повреждение костного мозга. До этого момента считалось, что повреждающее действие ионизирующего излучения (мутации, канцерогенез) в основном связано с прямым повреждением ДНК облученных клеток. В последние 20 лет было получено достаточно много информации о «bystander» эффекте, однако специфическая природа и механизм этого эффекта до сих пор не установлены.

Тем не менее, есть свидетельства существования как минимум двух независимых путей передачи повреждения от облученной клетки к необлученным: через межклеточные взаимодействия [64,65] и через клеточные факторы, секретируемые в культуральную среду [66] (это могут быть цитокины или другие факторы, увеличивающие внутриклеточный уровень различных форм активного кислорода в необлученных клетках). В то же время Мазерсилл и Сеймур [67,68] показали, что «bystander» эффект не зависит от межклеточных взаимодействий между клетками.

Появление повреждений в необлучённых клетках свидетельствует о существовании внемишенных эффектов и опровергает классические представления радиобиологии [69].

Изучение внемишенных эффектов имеет большое значение для понимания механизмов ответа организма на радиационное воздействие при облучении в малых дозах. Особенно важен вопрос, является ли «bystander effect» защитным механизмом или, наоборот, увеличивает число клеток, поврежденных одиночным радиационным треком.[68].

С одной стороны предполагается, что главной функцией этого эффекта является уменьшение риска трансформации клеток в многоклеточном организме, подвергшемся облучению. При этом считается, что одиночные клетки внутри ткани не всегда способны реагировать на облучение, а интегрированная многоклеточная система способна ответить на облучение удалением функциональной группы клеток, которые могли бы быть трансформированы, например, в раковые клетки.

С другой стороны вполне вероятно, что «bystander effect» может увеличивать число поврежденных клеток, и тем самым усиливать эффект облучения, искажая зависимость «доза – эффект». При расчете радиационных рисков используются модели, основанные на прямом действии облучения на ядерную ДНК. Однако, если «bystander effect» усиливает реакцию организма на воздействие ионизирующей радиации, то необходим перерасчет радиационных рисков, и в том числе риск канцерогенеза. При этом возможны различные формы нелинейности в зависимости «доза – эффект» в районе малых доз [70,71].

Знание этих закономерностей особенно важно для радиационной терапии рака, поскольку результат зависит от того, приводит ли «bystander effect» к увеличению числа трансформированных клеток или, наоборот, уменьшает их количество вследствие усиления летального эффекта.

Модификация байстендер эффекта химическими или физическими факторами (подавление или усиление эффекта) ещё больше усложняет зависимость биологических последствий облучения от поглощенной дозы. В частности нами исследована возможность уменьшения байстендер эффекта с помощью пигмента меланина.

Меланин способен перехватывать и превращать в тепло все виды физической энергии – магнитную, электрическую, радиационную, звуковую, тепловую и т.д. [72]. Кроме того, меланин также является антиоксидантом, нейтрализует потенциально опасные свободные радикалы

Существуют доказательства радиопротекторного действия меланина. Этот пигмент повсеместно распространен в живом мире. Он проявляет свое радиопротекторное действие на начальных стадиях облучения, предотвращая повреждение ДНК и не влияя на репарационную систему.

Меланин очень эффективен при защите наследственных структур от мутагенного действия малых доз радиации, при этом чем ниже доза радиационного воздействия, тем выше протекторное действие меланина [73]. Так, меланин способен полностью предотвращать эффекты малых доз радиации порядка 0,2 Гр [55,56].

Всё это позволило предположить, что меланин может оказать воздействие на передачу сигналов от облучённых клеток к необлучённым.

Материалы и методы

В работе использовалась клеточная культура: HPV-G (кератиноциты человека, иммортализованные вирусом папилломы человека). . Клетки культивировались в среде Dulbecco’s MEM F12 (1:1) в 25 $см^2$ флаконах и инкубировались в термостате при 37°C в присутствии 5% CO_2.

В исследованиях использовали эумеланин, выделенный из шерсти животных. Меланин добавляли в культуральную среду в концентрации 1 мг/мл перед облучением доноров. Реципиенты меланин не получали. Флаконы с клеточной культурой облучались при комнатной температуре с помощью ^{60}CO-радиотерапевтического источника. Расстояние от клеток до источника составляло 80 см. Все клетки получали одинаковую дозу 0,5 или1Гр. После облучения клетки помещались обратно в инкубатор.

Исследовали клетки 3-х типов – облученные, доноры и реципиенты. В каждом случае было 4 варианта:

1.Контроль (стандартная культура клеток);

2.Меланин (клетки с добавлением меланина);

3.Облучение (клетки, облученные в дозах 0,5 или 1 Гр);

4.Облучение + меланин (клетки, облученные в дозах 0,5 или 1 Гр с добавлением меланина)

Подсчитывали количество клеток в клеточной суспензии и, согласно технике колониеобразующего метода по Puck и Marcus [65], добавляли соответствующее количество клеток во флакон с 5 мл среды. Во флаконы с донорскими клетками пересаживали большое количество клеток ($0,5x10^6$) (для более интенсивного продуцирования фактора, вызывающего «bystander» эффект). Во флаконы реципиентов и прямого облучения вносили по 300 клеток.

Флаконы прямого облучения после облучения не подвергались более какому-либо воздействию. Через 1–1,5 часа после облучения донорских флаконов, их культуральная среда фильтровалась через 0,2 мкм фильтры, что позволяло удалять облучённые клетки и молекулы меланина, и затем переносилась во флаконы-реципиенты, заменяя их среду. После этого клетки – реципиенты помещались обратно в термостат на 9-10 дней до формирования колоний. Образовавшиеся колонии окрашивали с помощью карболфуксина, а затем производили подсчет их количества.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты приведены в таблицах 3 и 4.

Данные по колониеобразующей способности клеток представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка во всех случаях. Эффективность посева (PE) – это процентное соотношение числа образовавшихся колоний к числу посеянных клеток. Выжившая фракция (SF) – это отношение PE какого-либо варианта (меланин, облучение или меланин + облучение) к контролю.

Из полученных данных видно, что среда от облученных клеток значительно снижает колониеобразующую способность HPV-G клеток, т.е. наблюдается “bystander”эффект. Не обнаружено влияния меланина на колониеобразующую способность клеток. Колониеобразующая способность клеток, облученных в дозе 0,5 или 1Гр с добавлением меланина выше, чем клеток, облученных без введения меланина, что подтверждает радиозащитное действие меланина, показанное ранее [6].

Таблица 3

Влияние меланина на колониеобразующую способность HPV-G клеток.

Прямое облучение	*Число посеянных клеток*	*0,5 Гр*		*1 Гр*	
		Среднее число колоний	*P*	*Среднее число колоний*	*P*
Контроль	*300*	*146±5,5*	*-*	*158±5,8*	*-*
Меланин	*300*	*144±2,6*	*> 0,05*	*156±6,8*	*> 0,05*
Облучение	*300*	*105±1,2*	*< 0,01*	*123±2,8*	*< 0,01*
Облучение + меланин	*300*	*133±1,2*	*< 0,01*	*141±2,0*	*< 0,01*
Реципиенты «bystander» эффекта					
Контроль	*300*	*106±2,4*	*-*	*152±1,3*	*-*
Меланин	*300*	*103±0,8*	*> 0,05*	*151±3,0*	*> 0,05*
Облучение	*300*	*84±3,5*	*< 0,01*	*114±2,7*	*< 0,01*
Облучение + меланин	*300*	*97±2,6*	*< 0,01*	*129±2,9*	*< 0,01*

Таблица 4

Сравнение выживаемости HPV-G клеток при различных воздействиях

Доза облучения	*Тип клеток*	*PE контроля, %*	*%SF, меланин*	*%SF, облучение*	*%SF, облучение+ меланин*
0,5 Гр	*Прямое облучение*	*49±1,8*	*98±1,7*	*72±0,8*	*90±0,8*
	Реципиенты	*35±0,8*	*98±0,8*	*80±3,2*	*92±2,5*
1 Гр	*Прямое облучение*	*53±1,9*	*9 8±4,2*	*77±1,8*	*89±1,3*
	Реципиенты	*51±0,4*	*99±2,0*	*75±1,8*	*84±1,9*

Наиболее интересен факт, что «bystander» эффект в случае использования меланина оказался менее выраженным. Это позволяет предположить, что меланин способен подавлять сигналы, передаваемые от облучённых клеток необлучённым. Однако необходимо было убедиться, что меланин не проходит через фильтр и не попадает к клеткам – реципиентам, осуществляя обычный радиозащитный эффект. Для этого с помощью спектрофотометра сравнили оптическую плотность культуральной среды, среды с добавлением меланина и среды, отфильтрованной от облучённых клеток и меланина. Полученные результаты, приведенные на рисунке 7, свидетельствуют о том, что среда после фильтрации полностью идентична интактной среде в отличие от среды, содержащей меланин.

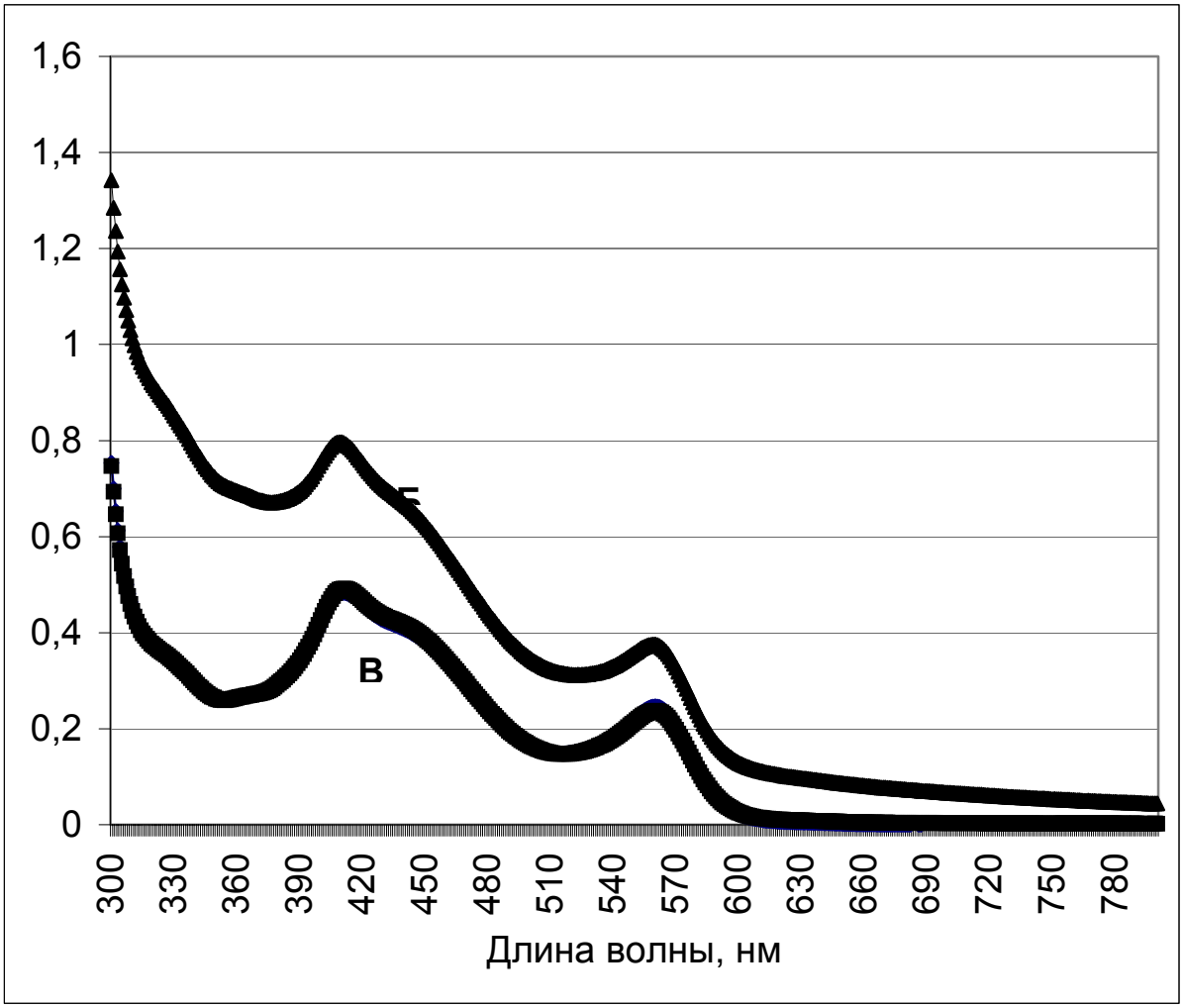


Рис.7. Оптическая плотность культуральной среды с добавлением меланина (верхняя кривая), интактной среды и среды, отфильтрованной от облучённых клеток и меланина (нижняя кривая)

Таким образом, можно сделать вывод, что меланин способен модифицировать “bystander” эффект, частично подавляя сигналы, передаваемые от облучённых клеток необлучённым.

В таблицах 1 и 2 приведены полученные результаты. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка во всех случаях. Колониеобразующая способность (PE) – это отношение полученного числа колоний к посеянному числу колоний. Выжившая фракция (SF) – это отношение к PE контроля.

Таблица 1

Влияние меланина на колониеформирующую активность HPV-G – клеток.

ТИП КЛЕТОК	Число посеянных клеток	Среднее число колоний		P	
		Прямое облучение	*Реципиенты*	*Прямое облучение*	*Реципиенты*
Контроль	*300*	*158±5,8*	*152±1,3*	-	-
Контроль+меланин	*300*	*156±6,8*	*151±3,0*	*> 0,05*	*> 0,05*
Облученные 1 Гр	*300*	*123±2,8*	*114±2,7*	*< 0,01*	*< 0,01*
Облученные+меланин	*300*	*141±2,0*	*129±2,9*	*< 0,01*	*< 0,01*

Таблица 2

Колониеобразующая способность HPV-G клеток.

Тип клеток	*PE контроль, %*	*% SF, мелонин*	*% SF, 1 Гр*	*% SF, 1 Гр + мелонин*
Прямое облучение	*53±1,9*	*98±4,2*	*77±1,8*	*89±1,3*
Перенос среды	*51±0,4*	*99±2,0*	*75±1,8*	*84±1,9*

Среда от облученных клеток значительно снижает колониеобразующую способность HPV-G клеток при прямом облучении и эффекте свидетеля. Не обнаружено влияния меланина на колониеобразующую способность клеток. Колониеобразующая способность облученных клеток в дозе 1 Гр с меланином ниже, чем в контроле, но выше, чем клеток, облученных без введения меланина. Наблюдаемый результат может быть следствием радиопротекторного действия меланина.

Заключение

Большенство генетических эффектов, возникающих в клетках, при воздействии ионизирующего излучения, связаны с эффектом прямого повреждения ее ДНК. Таким образом, количество эффектов пропорционально плотности излучения, действующего на данные клетки, и не должны быть связаными с необлученными клетками. Однако, существуют данные, указывающие на то, что облученные клетки могут влиять на интактные, вызывая в последних генетические повреждения. В ранних работах по эффекту соседства использовались потоки альфа-частиц с малой плотностью. Полученные экспериментальные данные о повреждениях сильно отличались от рассчитаных методом статистического анализа величин для прямого повреждения. В последствии, байстендер эффект был также обнаружен и для бета – и гамма- излучения. Отличительная черта этих эффектов – то, что они преобладают при малых дозах облучения.

Байстендер эффект встречается в различных клеточных системах и включает в себя несколько различных механизмов:

1) сигнал передается через щелевидные соединения между клетками;

2) взаимодействие происходит косвенным путем, с помощью биологических веществ.

Литература

Andrew J. Grosovsky, Radiation-induced mutations in unirradiated DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 5346–5347 (1999)

M.P. Little and R. Wakeford, The bystander effect in C3H 10T1/2 cells and radon-induced lung cancer. *Radiat. Res*. **156**, 695-699 (2001)

M.P. Little and R. Wakeford, The bystander effect in experimental systems and compatibility with radon-induced lung cancer in humans. *J. Radiol. Prot*. 22, A27-A31 (2002)

Oleg V. Belyakov, Eric J. Hall, Stephen A. Marino, Gerhard Randers-Pehrson and David J. Brenner. Studies of bystander effects in artificial human 3D tissue

systems using a microbeam irradiation. *Center for radiological research (annual report 2002)* 24-28

E.J. Hall, Genomic instability, bystander effect, cytoplasmic irradiation and other phenomena that may achieve fame without fortune. Physica Medica v. XVII, 21-25 (2001)

.Parsons W.B., Watkins C.H., Pease G.L., Childs D.S. Changes in sternal bone marrow following roentgen-ray therapy to the spleen in chronic granulocytic leukaemia. 1954, Cancer 7, 179-189

Azzam E., de Toledo S.., Gooding T., Little J.. // Radiat Res 1998. V. 150. P. 497-504

Azzam E.I., de Toledo S.M., et al. Direct evidence for the participation of gap junctionmediated intercellular communication in the transmission of damage signals from alpha-particle irradiated to nonirradiated cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001, 98(2):473-478.

Deshpande A., Goodwin E.H., Bailey S.M., Marrone B.L. and Lehnert B.E. Alpha-particle induced sister chromatid exchange in normal human lung fibroblasts – Evidence for an extranuclear target. Radiat. Res., 1996, 145: 260-267.

Mothersill, C. and Seymour, C. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells. Int. J. Radiat. Biol., 1997, 71: 421-427.

Mothersill C., and Seymour C.B. Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the medium. Rad. Res., 1998 149(3):256-262.

Prise K.M., Belyakov O.V., Folkard M. and Micheal B.D. Studies on bystander effects in human fibroblasts using a charged particle microbeam. Int. J. Radiat. Biol., 1998, 74: 793-798.

Howell, R. W. and Bishayee, A. Bystander effects caused by nonuniform distributions of DNAincorporated 125I. Micron, 2002, 33: 127-132.

Iyer R., and Lehnert, B.E. Low dose, low-LET ionizing radiation-induced radioadaptation and associated early responses in unirradiated cells. Mut. Res., 2002, 503(1-2):1-9.

Hill H.Z. The function of melanin or six blind people examine an elephant. Bioassays 1992, 14: 49-56

Mosse I.B., Kostrova L.N., Subbot S.T., Maksimenya I., Molophei V.P. Melanin decreases clastogenic effects of ionizing radiation in human and mouse somatic cells and modifies the radioadaptive response. Radiation and Envir.Biophysics. 2000. V.39, N1. P.47-52.

Mothersill C. and Seymour C. Radiation-induced bystander effects: past history and future directions. Radiat Res, 2001, 155: 759-767

Радиочувствительность с точки зрения генетики

Известно, что радиочувствительность разных видов живых организмов колеблется в огромных пределах. Так, если полулетальная доза для человека составляет 2.5-4 Гр, то для вирусов, инфузорий и некоторых бактерий эта величина достигает 7000 Гр [Айала Ф. и др., 1988]. Существуют и индивидуальные различия в радиочувствительности, т.е. особи не только одного и того же вида, но даже одной и той же популяции могут значительно различаться по величине этого признака. Насколько различается радиочувствительность особей в популяциях и в чём причина этих различий?

➢ *Распределение особей в популяции о признаку радиочуствительности*

С точки зрения генетики радиочувствительность является одним из количественных признаков, таких как рост, вес, плодовитость и т.д. Одной из особенностей количественных признаков является то, что распределение их численных значений в популяции представляет собой колоколообразную кривую [Алекперов У.К., 1984]. Для большинства особей характерны промежуточные значения признака, и лишь у небольшой части особей обнаруживаются крайние его значения (рис.). Математическая кривая, имеющая такую колоколообразную форму, отражает нормальное (или биномиальное) распределение. При этом 50% популяции (или результатов наблюдений) попадает в интервал, заключенный между значениями -0.67s и +0.67s, т.е. в зону среднего значения признака x±0.67s (более темный участок графика), 95% выборки (или популяции) находится в интервале x±1.96s (заштрихованный участок графика), и только 5% популяции оказываются в пределах от x±1.96s до x±3s и разделяются на сверхчувствительную фракцию (2.5%) и сверхрезистентную (тоже 2.5%). Это значит, что чем значение признака дальше от среднего, чем для меньшей доли популяции оно характерно.

Таким образом, число организмов или клеток, чувствительных к повреждающему агенту, возрастает не просто пропорционально дозе воздействия, а согласно кривой нормального распределения, в результате чего наблюдается резкое увеличение числа чувствительных генотипов на границе "а" и "б" и такой же резкий спад на границе "г" и "д" (рис.1).

Наличие сверхчувствительной фракции в популяциях клеток и организмов объясняет противоречивые мнения относительно порога биологического действия ионизирующей радиации. Действительно, если исследуются небольшие выборки из популяций или используются не очень чувствительные тесты, то кажущийся порог в действии облучения выявляется на рубеже интервалов "б" и "в". Чем дальше влево от этой границы, тем меньше количество особей (или клеток), чувствительных к изучаемой дозе, поэтому чем чувствительней тесты и чем больше анализируемая выборка, тем при более низких дозах удает-

ся обнаружить биологические (в частности генетические) эффекты, что свидетельствует об отсутствии порога в генетическом действии радиации.

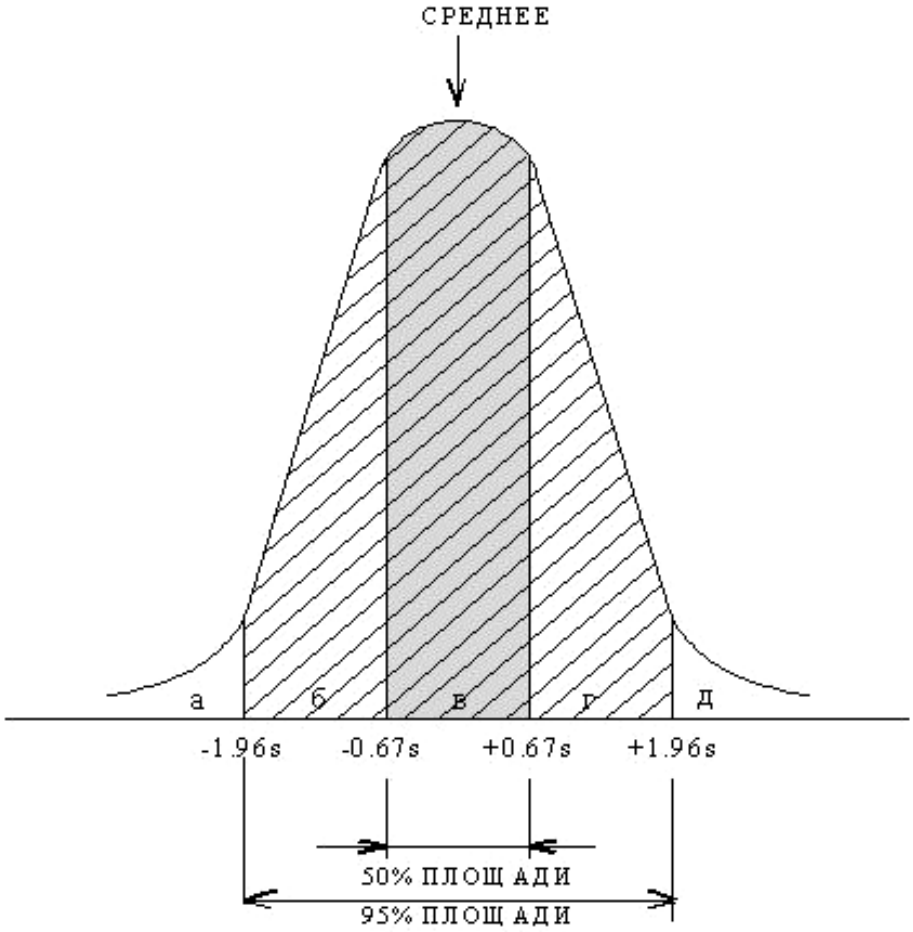


Рис.1. Нормальное распределение

Очевидно, что малочисленная сверхчувствительная фракция в популяциях страдает раньше всех других от загрязнения окружающей среды радионуклидами, так же как и другими повреждающими агентами. Что касается популяций человека, то очевидно, это и есть та дань, которую человечество платит за цивилизацию.

Часто эпидемиологические исследования обнаруживают неравномерное распределение заболеваний по территориям. Например, в одной деревне выявляются сразу несколько лейкозов. Это не всегда означает, что жители данной деревни подверглись облучению в более высокой дозе. Этот феномен может быть обусловлен более высокой радиочувствительностью заболевших, вероятно имеющих общие генетические корни.

При исследовании ликвидаторов иногда обнаруживается, что одни и те же признаки лучевой болезни появляются у лиц, получивших дозы ионизирующей радиации, различающиеся весьма существенно. Из этого факта некоторые исследователи делают вывод о неправильном вычислении дозовых нагрузок, забывая о генетических различиях индивидуумов.

Для выявления риска малых доз радиации были обследованы популяции людей, проживающих в районах с повышенным радиационным фоном [Костро-

ва Л.Н. и др., 1999]. Например, в штате Керала в Индии уровень естественной радиоактивности равен 4-5мЗв в год, а в штате Айова и Иллинойс в США концентрация радия-226 в питьевой воде составляет в среднем 0.17 Бк на литр. Достоверных отклонений в состоянии здоровья людей, проживающих на этих территориях, не выявлено [Кудряшов Ю.Б. и др., 1982]. Однако, можно предположить, что сверхчувствительная фракция популяций, первоначально поселившихся в таких местах, была элиминирована в ходе естественного отбора, а оставшаяся часть дала начало новой, более резистентной популяции. Если же в эти места будут переселены люди из других популяций, то влияние высокого радиационного фона может привести к значимым для переселенцев биологическим последствиям.

Учет популяционно-генетических аспектов особенно важен для вычисления индивидуального радиационного риска. Например, при лечении злокачественных заболеваний, таких как раковые опухоли, и особенно при лейкозах, необходимо очень точно определить дозы радиационно-терапевтического воздействия. Эффективные дозы для разных лиц могут различаться очень сильно, а ошибки могут привести к летальному исходу.

Кроме того, учитывая биномиальное распределение по признаку радиочувствительности особей внутри популяции, можно разработать новые подходы к определению предельно допустимых уровней воздействия радиации.

Согласно такому распределению большая часть популяции обладает средним значением радиочувствительности. Чем более радиочувствительны или радиорезистентны особи, тем меньшее их количество имеется в популяции (см. рис.1). Чем более правое положение на рисунке занимают особи, т.е. чем они радиоустойчивей, тем большую дозу могут они перенести без вредных последствий. Поэтому безвредные для разных фракций популяции дозы радиации на этом графике будут возрастать от "а" к "д".

Конечно, на современном этапе невозможно избавить живую природу от воздействия неблагоприятных факторов в таких малых дозах, как "а". При этом повреждается лишь 2.5% популяции. Что же касается дозы "б", то она губительна уже для 25% особей. Этот резкий переход от "а" к "б", очевидно, и должен быть пределом допустимых доз облучения, во всяком случае, для популяций человека.

➢ *Возможность адаптации к облучению*

Популяции разных видов живых организмов могут адаптироваться к вредным воздействиям в высоких дозах, таких как "в", при которых гибнет 75% особей, а некоторые популяции способны восстановить свою численность даже после воздействия в дозе "г", губительной для 97.5% особей. Такая адаптация достигается ценой гибели большей части популяции за счет размножения выжившей самой резистентной фракции [Алекперов У.К., 1984].

Чем выше плодовитость и чем быстрее смена поколений у данного вида, тем легче может он приспособиться к воздействию ионизирующей радиации

даже в высоких дозах. Быстрое размножение выживших особей позволяет заполнить ареал обитания популяцией, резистентной к данной дозе облучения.

Возникновение сверхрезистентных популяций особенно характерно для простейших, и такие примеры хорошо известны для вирусов и бактерий. Например, в воде атомного котла реактора в Лос-Аламосе живут и размножаются бактерии Micrococcus radiodurans при дозах 10^4-10^5 Гр [Айала Ф. и др., 1988].

Популяции насекомых также могут восстановить свою численность, даже если в результате неблагоприятных условий существования их численность резко сокращается (т.е. популяция проходит сквозь "бутылочное горлышко"). Например, популяции многих видов, обитающие на океанических островах, хотя и насчитывают в настоящее время миллионы особей, происходят от одной или нескольких особей, когда-то давно случайно попавших туда. Естественно, что такие популяции могут выжить и после воздействия дозы "г".

Некоторые популяции диких животных также могут восстанавливаться после гибели подавляющей части особей (в частности, такие примеры известны для популяций грызунов). Однако, чем ниже плодовитость и больше длительность поколений, тем труднее восстанавливается численность популяции. Абсолютно ясно, что для человека такая адаптация, связанная с гибелью большой части популяции, невозможна и недопустима.

➢ *Генетическая детерминированность радиочувствительности*

Наследственные различия особей по радиочувствительности, как и по другим количественным признакам, обусловлены взаимодействием нескольких пар полимерных генов, определяющих целый ряд физиологических и биохимических особенностей организма. Например, генотипы различаются по содержанию в клетках ауторадиопротекторов и аутоантимутагенов, таких как эндогенные антиоксиданты и серусодержащие вещества, находящиеся в клетках или синтезирующиеся в них под влиянием облучения; по уровню репаративных процессов и т.д. Поэтому особи отвечают на воздействие облучения в одной и той же дозе по–разному.

Повреждения даже на уровне ДНК не всегда полностью адекватны поглощённой дозе радиации, поскольку возможна миграция энергии с ДНК на протектор, если он находится в клетке на расстоянии не более 100 ангстрем от ДНК. На уровне хромосомы радиационный эффект зависит от её конденсации, белково-нуклеиновых взаимодействий, соотношения эу – и гетерохроматина и т.д. Что же касается клетки, то в ней работают такие мощные модификаторы облучения как репарационные ферменты и радиоадаптивный ответ, происходит амплификация генов, ответственных за радиоустойчивость, включение мобильных генетических элементов и пр. На уровне ткани радиационные эффекты модифицируются элиминацией повреждённых клеток (апоптоз), явлениями адаптации и генетической нестабильности. Огромное количество факторов влияет на результаты радиационных воздействий на уровне организма, например состояние биохимических и физиологических систем, наличие наследственных болезней, отбор на уровне гамет и на уровне зигот. На уровне популяции эф-

фекты зависят от колебаний численности особей (при снижении численности частота мутаций падает, а при возрастании количества особей – увеличивается), от сезонных изменений, от миграции особей, происходит выбраковка неполноценных особей естественным отбором и т.д.

При хроническом облучении добавляются такие популяционные процессы, как например элиминация повреждений в ходе обычного обновления клеточного состава, причем преимущественно элиминируются клетки с нарушениями. При этом в популяциях могут происходить разнонаправленные процессы. С одной стороны происходит адаптация – отбор и размножение клеток с более резистентным генотипом, что приводит к снижению радиочувствительности популяции. Эти процессы хорошо известны для всех типов популяций клеток и организмов. С другой стороны возможно возникновение генетической нестабильности, приводящей к возрастанию частоты генетических нарушений в следующих поколениях.

Все перечисленные явления детерминированы генетически. В то же время на проявление количественных признаков оказывает влияние и внешняя среда.

➢ *Влияние факторов окружающей среды*

Радиочувствительность, как и все другие количественные признаки, в большой степени зависит и от факторов внешней среды. Так, на резистентность влияет рацион питания: пища, богатая витаминами, микроэлементами, адаптогенами и т.д. способствует повышению радиорезистентности. Многие пищевые продукты содержат антимутагены. Например, чай, кофе, какао, шоколад, грибы, черный виноград, черная икра и т.д. содержат пигмент меланин, который эффективно снижает выход генетических повреждений, вызываемых облучением в половых и соматических клетках и в том числе в лимфоцитах человека [Маленченко А.Ф. и др., 1984]. Антимутагенными свойствами обладают, и токоферол (витамин Е) и другие природные антиоксиданты. [Моссэ И.Б. и др., 1999] Все они могут снижать частоту мутаций, индуцированных ионизирующей радиацией. Безусловно и прием лекарственных препаратов, и многие другие факторы, воздействующие на организм, могут существенно изменить его радиочувствительность в данный конкретный момент. В то же время высококалорийная пища по некоторым данным, более чем на порядок увеличивает канцерогенное действие облучения [Ferro W., 1983].

Кроме условий питания, на уровень радиочувствительности влияют двигательная активность, нервно-психическое состояние, гормональный баланс, наличие заболеваний негенетической природы и т.п.

Проявление адаптивного ответа тоже может зависеть от различных внешних факторов. Так, изучено влияние различных химических веществ на радиоадаптивную реакцию в половых и соматических клетках мышей. Обнаружено, что если перед адаптирующей дозой ввести в организм меланин, то адаптивный ответ не проявляется [Маленченко А.Ф. и др., 1984]. Известно, что адаптивный ответ связан со стимуляцией репарационных процессов в клетке адаптирую-

щим агентом. При этом действие повреждающей дозы приходится на состояние повышенной радиорезистентности клетки. Выступая в роли буфера, меланин снимает действие малой дозы радиации, предотвращая адаптивный ответ. Если же ввести меланин между адаптирующей и повреждающей дозами, то проявляется и защитный эффект меланина, и радиоадаптивная реакция, в результате чего частота повреждений снижается практически до контрольного уровня (рис.2).

Маскировать адаптивный эффект способен и токоферол, но в отличие от меланина его действие основано на стимуляции репарационных процессов в клетке, т.е. он влияет на те же системы, что и адаптирующая доза. Поэтому их совместное действие не приводит к усилению защитного эффекта [Fujikawa K. et al, 1979].

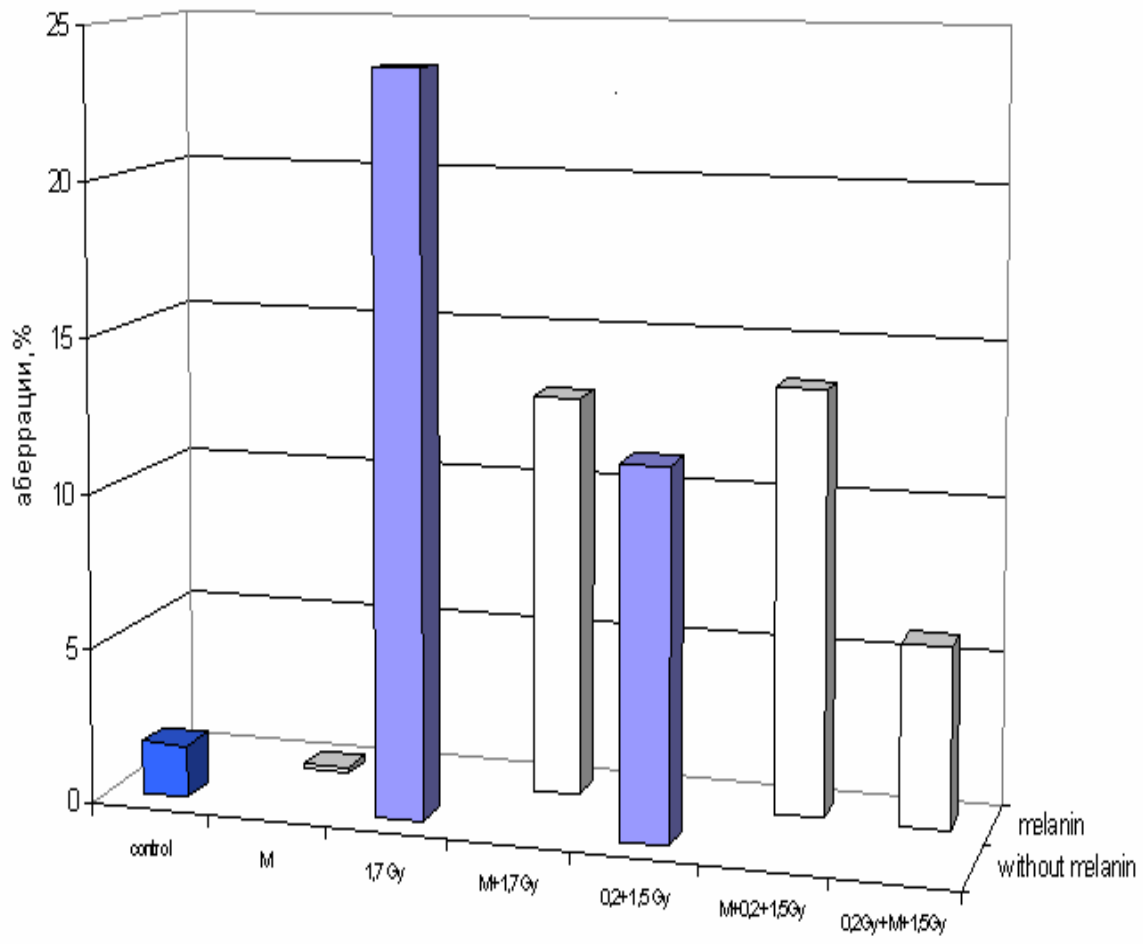


Рис.2 Влияние меланина на адаптивный ответ в клетках костного мозга мышей (М- меланин)

В то же время слабые мутагены, такие как гербицид зенкор, могут подавлять проявление радиоадаптивной реакции, ингибируя репарационные процессы [Fujikawa K. et al, 1979].

Таким образом, радиочувствительность особей зависит как от генетических особенностей организма, так и от многочисленных факторов окружающей среды. Поэтому она может меняться, и отдельные особи в каждый конкретный

момент могут переходить из одной группы в другую и обратно (например, из группы "а" в группу "б", из группы "г" в "в" и т.д. (рис.1). Но в среднем, в популяции будет сохраняться нормальное распределение особей по признаку радиочувствительности.

Влияние генотипа и среды на радиочувствительность можно наглядно продемонстрировать с помощью пигмента меланина. Известно, что одной из основных функций этого пигмента является защита клеток от УФ-радиации. В ряде работ было показано, что высокое содержание эндогенного меланина (в частности в меланомах), а также добавление экзогенного меланина способствует возрастанию общей радиорезистентности клеток и организмов [Fujikawa K. et al, 1981, Gross L. et al, 1986, Hanson G.P. et al, 1983]. Было исследовано влияние меланина на генетические последствия ионизирующей радиации и показано, что инъекции или скармливание этого пигмента снижают в 2-4 раза частоты мутаций, вызываемых облучением в половых клетках животных [Маленченко А.Ф. и др., 1984].

Эти данные показывают, что радиационный риск как популяционный, так и индивидуальный в гораздо большей степени, чем это предполагалось ранее, зависит от содержания меланина в организме (очевидно, белая раса менее устойчива, чем желтая и черная). Кроме того, можно повысить радиорезистентность организма с помощью меланина, введённого извне.

Для доказательства мутагенного действия ионизирующей радиации Дж. Мёллеру пришлось синтезировать специальные тестерные линии дрозофилы и провести соответствующие скрещивания особей. С тех пор прошло 85 лет, а самый главный вопрос о генетических последствиях облучения человека так и не решён. Действительно человека нельзя ни облучать, ни скрещивать, а исследовать частоту радиационных мутаций в потомстве людей, облученных по разным причинам, задача столь же сложная, сколь и не благодарная.

Одним из подходов, позволяющих хоть как то приблизиться к решению данного вопроса, является анализ цитогенетических повреждений в культивируемых клетках человека. При облучении одних и тех же образцов крови разными дозами ионизирующей радиации наблюдается строгая зависимость частоты аберраций от дозы. Это дало основание для использования данного критерия в целях биодозиметрии. Однако при обследовании населения Хиросимы и Нагасаки не было выявлено достоверных различий по уровню хромосомных перестроек между облученными и не облученными группами людей. Результаты исследования in vivo оказались отличными от таковых in vitro. После Чернобыльской аварии исследования по биодозиметрии получили широкое распространение, однако возможности этого метода не всегда понимаются правильно. Нельзя забывать, что одно и то же воздействие может вызвать существенно различающееся количество или различную степень изменений у разных представителей одного и того же вида и даже одной и той же популяции

Экспериментатор не в состоянии учесть не только генетические особенности человека, но зачастую и образ его жизни. – наличие в его рационе радиопротекторов или радиосенсибилизаторов, психологическое и гормональное со-

стояние пациента и т.п. Поэтому один и тот же человек в разное время может иметь различную радиочувствительность.

При сравнении результатов цитогенетической дозиметрии с дозами, полученными ликвидаторами Чернобыльской аварии согласно документов, часто наблюдаются существенные расхождения. При этом исследователи склонны считать более достоверной информацию, полученную с помощью биологических методов [Hill H.Z. et al, 1987].

Кроме всего сказанного выше о различиях в радиочувствительности, надо учитывать, что индукция облучением хромосомных аберраций существенно зависит не только от стадии клеточного цикла, от возраста и пола, но и от концентрации кислорода во время облучения, от мощности дозы облучения и т.д. Кроме того, на результаты цитогенетического анализа влияют также скорость митотического цикла, сроки воздействия и фиксации, условия проведения опыта (например, использование стеклянной или пластиковой посуды) и многие другие факторы.

Ряд веществ могут ускорять или замедлять клеточный цикл, способствовать перескакиванию клеток во второй или даже в третий митоз. что резко меняет результаты биодозиметрии.

Помимо этого хромосомные аберрации могут быть следствием не только облучения, но и других неконтролируемых мутагенных воздействий. При этом возможны не только аддитивные эффекты, но и синергические, что приведет к резкому завышению оценки радиационной дозы. Ряд химических веществ, не обладающих мутагенным эффектом, тоже способны усиливать цитогенетические эффекты ионизирующих излучений. Например, нитрит и нитрат натрия, которые широко используются в качестве удобрений и остаточные количества которых находятся во многих сельскохозяйственных продуктах, усиливают мутагенное действие радиации, хотя сами не являются мутагенами – наблюдается эффект сенсибилизации [Lefevre G, 1967].

Наличие в пищевых продуктах остаточных количеств гербицидов также может повлиять на уровень аберраций в клетках человека. Так, исследование влияния гербицида зенкора на мутагенное действие ионизирующей радиации. показало, что это вещество обладает слабой мутагенной активностью, но при сочетании зенкора с облучением наблюдается эффект антагонизма – частота мутаций оказывается ниже ожидаемой суммарной величины [Lukiewich S., 1976].

Аналогично антимутагены и антиоксиданты. могут снижать частоту мутаций, индуцированных ионизирующей радиацией.

Таким образом, результаты определения радиационных нагрузок с помощью цитогенетических методов могут быть искажены как в сторону завышения, так и в сторону занижения в зависимости от рациона питания человека, равно как и многих других неконтролируемых факторов.

Заключение

Таким образом результаты, полученные многими исследователями, свидетельствуют о генетической детерминированности радиочувствительности.

Можно привести в качестве примера вывод C.Mothersill et al.[Summer D. et al, 1994]: «Ясно, что генетическая предрасположенность является решающей и может быть даже более важной, чем доза.» В то же время поскольку радиочувствительность является количественным признаком, то на неё, как и на все другие количественные признаки, влияют разнообразные факторы окружающей среды.

Современные проблемы биодозиметрии

Для доказательства мутагенного действия ионизирующей радиации Дж. Мёллеру пришлось синтезировать специальные тестерные линии дрозофилы и провести соответствующие скрещивания особей. С тех пор прошло 85 лет, а самый главный вопрос о генетических последствиях облучения человека так и не решён. Действительно человека нельзя ни облучать, ни скрещивать, а исследовать частоту радиационных мутаций в потомстве людей, облученных по разным причинам, задача столь же сложная, сколь и не благодарная.

Одним из подходов, позволяющих хоть как то приблизиться к решению данного вопроса, является анализ цитогенетических повреждений в культивируемых клетках человека. При облучении таких клеток in vitro наблюдается строгая зависимость частоты аберраций от дозы радиации. Это дало основание для использования данного критерия в целях биодозиметрии. Однако при обследовании населения Хиросимы и Нагасаки не было выявлено достоверных различий по уровню хромосомных перестроек между облученными и не облученными группами людей. Результаты исследования in vivo оказались отличными от таковых in vitro.

Трактовка термина «биодозиметрия»

После Чернобыльской аварии исследования по биодозиметрии получили широкое распространение, а сам термин «биодозиметрия» стал настолько модным, что стал использоваться , где надо и где не надо. Так, в научной литературе встречаются работы, в которых термином « биодозиметрия » называют определение количества радионуклидов в организме , а так же суммарной или удельной радиоактивности биологического материала с помощью технических средств, например, с помощью гамма- спектрометра [Кажина М.В. и др., 2001]. Но если таких работ не так уж много, то определение дозовых нагрузок методом ЭПР эмали зубов уже привычно считается биодозиметрическим методом, хотя метод электронного парамагнитного резонанса – это физический метод.. Хотелось бы уточнить, что «биодозиметрия» – это дозиметрия с помощью биологических методов, а не физических и не химических.

Не менее важным является также правильное понимание возможностей биодозиметрии. .Можно сравнивать степень нарушений, . вызываемых разными дозами повреждающих агентов у одних и тех же объектов или одной и той же дозой у разных организмов. Однако нельзя забывать, что одно и то же воздей-

ствие может вызвать существенно различающееся количество или различную степень изменений у разных представителей одного и того же вида и даже одной и той же популяции

Кроме того, на радиочувствительность, как и на все количественные признаки существенное влияние оказывает внешняя среда. .Пищевой рацион, двигательная активность, наличие заболеваний, нервно-психическое состояние, гормональный баланс и другие факторы могут значительно модифицировать радиочувствительность. Поэтому один и тот же человек в разное время может иметь различную радиочувствительность.

Экспериментатор не в состоянии учесть не только генетические особенности человека, но зачастую и образ его жизни. – наличие в его рационе радиопротекторов или радиосенсибилизаторов, психологическое и гормональное состояние пациента и т.п. Так. при исследовании ликвидаторов Чернобыльской аварии часто обнаруживается, что одни и те же признаки лучевой болезни появляются у лиц, получивших разные дозы радиации. Аналогично при сравнении результатов цитогенетической дозиметрии с дозами, полученными ликвидаторами согласно документов, наблюдаются существенные расхождения. При этом исследователи склонны считать более достоверной информацию, полученную с помощью биологических методов.

Использование цитогенетических методов

Чаще всего для биодозиметрии используют цитогенетические методы, но нельзя забывать, что индукция облучением хромосомных аберраций существенно зависит не только от стадии клеточного цикла, от возраста и пола, но и от концентрации кислорода во время облучения, от мощности дозы облучения и т.д. Кроме того, на результаты цитогенетического анализа влияют также скорость митотического цикла, сроки воздействия и фиксации, условия проведения опыта (например, использование стеклянной или пластиковой посуды) и многие другие факторы.

Ряд веществ могут ускорять или замедлять клеточный цикл, способствовать перескакиванию клеток во второй или даже в третий митоз. что резко меняет результаты биодозиметрии.

Влияние химических веществ

Хромосомные аберрации могут быть следствием не только облучения, но и других неконтролируемых мутагенных воздействий. При этом возможны не только аддитивные эффекты, но и синергические, что приведет к резкому завышению оценки радиационной дозы. Ряд химических веществ, не обладающих мутагенным эффектом, тоже способны усиливать цитогенетические эффекты ионизирующих излучений. Например, нами показано, что нитрит и нитрат натрия, которые широко используются в качестве удобрений и остаточные количества которых находятся во многих сельскохозяйственных продуктах,

усиливают мутагенное действие радиации, хотя сами не являются мутагенами – наблюдается эффект сенсибилизации [Маленченко А.Ф. и др., 1984].

Наличие в пищевых продуктах остаточных количеств гербицидов также может повлиять на уровень аберраций в клетках человека. Так, мы исследовали влияние гербицида зенкора на мутагенное действие ионизирующей радиации. Оказалось, что это вещество обладает слабой мутагенной активностью. Однако при сочетании зенкора с облучением наблюдается эффект антагонизма – частота мутаций оказывается ниже ожидаемой суммарной величины [Mosse I. et al, 1998].

В то же время многие пищевые продукты содержат антимутагены. Например, чай, кофе, какао, шоколад, грибы, черный виноград, черная икра и т.д. содержат пигмент меланин, который эффективно снижает выход генетических повреждений, вызываемых облучением в половых и соматических клетках и в том числе в лимфоцитах человека [Моссэ И.Б. и др., 1999] . Антимутагенными свойствами обладают, и токоферол (витамин Е) и другие природные антиоксиданты. Все они могут снижать частоту мутаций, индуцированных ионизирующей радиацией.

Таким образом, результаты определения радиационных нагрузок с помощью цитогенетических методов могут быть искажены как в сторону завышения, так и в сторону занижения в зависимости от рациона питания человека.

Безусловно и прием лекарственных препаратов, и многие другие факторы, воздействующие на организм, могут существенно изменить результаты оценки дозовых нагрузок

При хроническом облучении анализ осложняется различными процессами, происходящими в популяциях клеток, например элиминацией перестроек хромосом в ходе обычного обновления клеточного состава крови, причем преимущественно элиминируются клетки с нарушениями. При этом в популяциях могут происходить разнонаправленные процессы. С одной стороны происходит адаптация – отбор и размножение клеток с более резистентным генотипом, что приводит к снижению радиочувствительности популяции лимфоцитов. Эти процессы хорошо известны для всех типов популяций клеток и организмов. С другой стороны возможно возникновение генетической нестабильности, приводящей к возрастанию частоты цитогенетических нарушений. Таким образом, даже при использовании специальных калибровочных кривых мы не можем быть застрахованы от серьезных ошибок при определении дозовых нагрузок

Влияние адаптивного ответа

Существенное влияние на результаты биодозиметрии может оказывать адаптивный ответ. Этот феномен является неспецифическим, т.е. слабое химическое воздействие делает организм более устойчивым к последующему воздействию ионизирующей радиации и наоборот. Радиоадаптивный ответ может быть вызван самыми разнообразными факторами, включая вирусные инфекции, стрессы, пищевые добавки и т.д. При этом адаптирующий агент не вызывает

цитогенетических эффектов. Следовательно, если перед облучением организм испытал на себе адаптирующее воздействие, то регистрируемая частота хромосомных аберраций, вызванных радиацией, может оказаться в два раза ниже, чем если бы этого воздействия не было. Проконтролировать такие артефакты практически невозможно.

Положение осложняется еще и тем, что проявление адаптивного ответа также зависит от других влияющих на организм факторов. Так, нами изучено влияние различных химических веществ на радиоадаптивную реакцию в половых и соматических клетках мышей. Обнаружено, что если перед адаптирующей дозой ввести в организм меланин, то адаптивный ответ не проявляется [Кострова Л.Н. и др., 1999].

Известно, что адаптивный ответ связан со стимуляцией репарационных процессов в клетке адаптирующим агентом. При этом действие повреждающей дозы приходится на состояние повышенной радиорезистентности клетки. Выступая в роли буфера, меланин снимает действие малой дозы радиации, предотвращая адаптивный ответ. Если же ввести меланин между адаптирующей и повреждающей дозами, то проявляется и защитный эффект меланина, и радиоадаптивная реакция, в результате чего частота генетических нарушений снижается практически до контрольного уровня [Кострова Л.Н. и др., 1999].

Маскировать адаптивный эффект способен и токоферол, но в отличие от меланина его действие основано на стимуляции репарационных процессов в клетке, т.е. он влияет на те же системы, что и адаптирующая доза. Поэтому их совместное действие не приводит к усилению эффекта [Кострова Л.Н. и др., 1999].

В то же время слабые мутагены, такие как исследованный нами гербицид зенкор, подавляют проявление радиоадаптивной реакции, возможно ингибируя репарационные процессы [Кострова Л.Н. и др., 1999].

Возможна ли в принципе биологическая дозиметрия?

Из всех биологических показателей наименее подвержены модификациям генетические параметры, но и разные генетические тесты отличаются по лабильности. Понимая несовершенство цитогенетических методов, исследователи разрабатывают способы анализа генных мутаций у человека, однако генные мутации могут быть микроаберрациями. Менее зависимыми от различных факторов являются точковые (точечные) мутации, индукция которых облучением в отличие от хромосомных перестроек не зависит ни от стадии гаметогенеза [Lefevre G., 1967, Miyamoto T., 1982], ни от мощности дозы [Fujikawa K., 1981, 1979], ни от концентрации кислорода [Sobels F.H., 1963, Ferro W., 1983] и т.д. Тем не менее даже повреждения на уровне ДНК не всегда полностью адекватны количеству поглощённой дозе радиации, поскольку возможна миграция энергии с ДНК на протектор, если он находится на расстоянии не более 100 ангстрем. На уровне хромосомы радиационный эффект зависит от её конденсации, белково-нуклеиновых взаимодействий, соотношения эу – и гетерохрома-

тина и т.д. В клетке работают такие мощные модификаторы как репарационные ферменты и радиоадаптивный ответ. Происходит амплификация генов, ответственных за радиоустойчивость, включение мобильных генетических элементов и пр. На уровне ткани радиационные эффекты модифицируются элиминацией повреждённых клеток (апоптоз), явлениями адаптации и генетической нестабильности . Огромное количество факторов влияет на результаты радиационных воздействий на уровне организма, многие из которых описаны выше. Можно добавить отбор на уровне гамет и на уровне зигот, ранние недиагностируемые выкидыши. На уровне популяции эффекты зависят от колебаний численности (при снижении численности частота мутаций падает, а при возрастании количества особей – увеличивается), от сезонных изменений, от миграции особей, происходит выбраковка неполноценных особей естественным отбором и т.д. Всё это делает определение доз, полученных природными популяциями, обитающими в радиационных районах , ещё более ненадёжным, чем биодозиметрия человека.

Заключение

Перечень аналогичных данных можно продолжить. Результаты, полученные многими исследователями, свидетельствуют о модификации радиационных эффектов различными факторами. Таким образом, на организм влияют самые разнообразные неконтролируемые факторы, которые изменяют результаты биодозиметрического исследования и усугубляют различия между особями, обусловленные генетически. Поэтому более корректно использовать биологические методы для биоиндикации, а не для биодозиметрии..

Популяционный уровень

Влияние ионизирующих излучений на популяции

Большое практическое значение приобрела проблема влияния ионизирующей радиации на живые организмы в среде их обитания. Причиной этому явилось поступление в окружающую среду искусственных радионуклидов в результате проведения экспериментальных ядерных взрывов, применения атомной энергии в мирных целях, а также аварий на АЭС.

Интенсивное загрязнение окружающей среды сделало актуальным выяснение отдаленных биологических эффектов, индуцируемых в природных популяциях мутагенными факторами, а также поиск возможностей предотвращения или снижения вредных последствий загрязнения биосферы.

Несмотря на значимость популяционных исследований, многие закономерности генетических процессов в популяциях живых организмов раскрыты еще недостаточно [301-303]. Особенно это касается проблемы влияния на популяции длительных воздействий мутагенных факторов.

Первые исследования влияния на популяции острого облучения, выполненные на дрозофиле [304-306], в известной мере были стимулированы проводившимися в то время испытаниями атомных бомб в атмосфере, что приводило к облучению больших групп живых организмов. Полученные результаты показали, что под влиянием ионизирующей радиации в популяциях появляется большое количество мутаций разных типов – деталей, полулеталей и других мутаций, способных снижать жизнеспособность особей. После прекращения облучения популяции постепенно „очищаются" от вредных мутаций. Быстрее всего из облученных популяций элиминируются особи, несущие хромосомные перестройки и ДЛМ. Остальные типы мутаций, меньше влияющие на жизнеспособность их носителей, могут оставаться в популяции на протяжении многих поколений, снижая ее приспособленность.

Таким образом, после прекращения острого облучения в популяции в течение более или менее длительного времени происходит процесс „очищения" от возникших вредных мутаций. Полезные мутации, которые возникают гораздо реже, чем вредные, сохраняется, если дают несущим их особям какие-то преимущества. Необходимо помнить, что элиминация мутаций сопровождается гибелью особей на разных этапах онтогенеза.

При длительном или периодическом облучении ионизирующая радиация становится новым фактором среды с высокой мутагенной активностью. При воздействии длительного облучения, помимо увеличения генетического груза, в популяциях наблюдается также возрастание частоты полезных для организма мутаций. При изменении направления отбора эти изменения генетического материала могут быть положены в основу нового адаптивного комплекса генов, т. е. в определенных случаях радиационные мутации включаются в генофонд популяций и повышают их жизнеспособность. Это способствует ускорению адаптивного сдвига в популяции при появлении новых условий среды, в том числе и повышении фона радиации. В частности, таким адаптивным сдвигом является возрастание радиорезистентности популяций при их длительном или периодическом облучении.

За несколько поколений естественный отбор может собрать новые мутации в более коадаптированный генетический пул [307]. Увеличение радиорезистентности облученных популяций наблюдалось у разных видов живых организмов. Было обнаружено [308], что при периодическом облучении бактерий высокими дозами их устойчивость к облучению увеличивается в несколько раз.

Влияние ионизирующей радиации на популяции растений исследовано в работах [309-313]. Так, например, в работе [311] при изучении природных популяций низших растений (одноклеточной зеленой водоросли хлореллы), обитающих на участках с высоким уровнем радиации, была выявлена более высокая резистентность по выживаемости, чем в контрольной популяции (ЛДзо в 1,5-2 раза выше). В облучаемых лабораторных (экспериментальных) популяциях хлореллы установлена адаптивная перестройка, связанная не только с общим увеличением устойчивости к радиации, но и с изменением уровня мутационного процесса в этих популяциях (пигментные и морфологические мутации).

Повышенная радиорезистентность установлена также и в популяциях дикорастущих травянистых растений (василек лесной, горошек мышиный, проломник север-

ный, скерда и др.), подвергавшихся на экспериментальных участках в течение свыше 20 лет хроническому облучению (р-излучением стронция-90 при мощности дозы около 0,01 Гр/сут. Наблюдалось возрастание радиоустойчивости популяций приблизительно в 2 раза по сравнению с соответствующим контролем по тесту хромосомных аберраций [311].

Исследования адаптации популяции животных проводились в основном на дрозофиле, как в природных, так и в экспериментальных популяциях. Так, в работе [314] исследовалась бразильская популяция дрозофилы, обитавшая в лесу, богатом торием. Ее радиочувствительность сравнивалась с радиочувствительностью популяции из экологически сходного леса, в котором уровень радиоактивности был в 100 раз меньше. Оказалось, что при облучении обеих популяций рентгеновскими лучами в дозе 1000 Р снижение плодовитости и жизнеспособности в первой популяции было меньше, а уровень доминантных летальных мутаций ниже, чем во второй. Был сделан вывод о том, что хронически облучавшаяся популяция в 2 раза более радиоустойчива, чем контрольная.

Адаптация экспериментальной популяции дрозофилы, облучавшейся на протяжении 220 поколений, выявлена в работах [315-317]. Анализ устойчивости этой популяции к облучению показал, что по индукции мутаций ее радиочувствительность в 2 раза ниже, чем контрольной.

Таким образом, увеличение радиоустойчивости популяций при хроническом или периодическом облучении в определенных условиях возможно для различных видов живых существ.

Данные о влиянии каких-либо химических соединений на мутационный процесс в облучаемых популяциях в литературе отсутствовали, поэтому целью нашей работы было выяснение возможности модификации спонтанного и радиационного мутационного процесса в длительно облучаемых популяциях с помощью антимутагена меланина.

Биологическая роль меланиновых пигментов

Меланины представляют собой конденсированные фенольные соединения. Они присутствуют в тканях растений, животных и многих микроорганизмов. В организме человека этот пигмент придает окраску волосам, бровям, ресницам, радужной оболочке глаза, коже. В коже животных и человека присутствие и новообразование меланина представляет собой защитную реакцию организма на действие ультрафиолетового излучения.

Под влиянием ультрафиолета интенсифицируется процесс образования меланина из тирозина и других мономеров (загар – защитная реакция организма на воздействие солнечных лучей) Возникновение черной кожи у человека при продвижении первоначальной белой расы в тропические районы произошло, по мнению Ленграйджа [271], в результате отбора многих мелких мутаций, обусловливающих формирование все более и более темной кожи, что имеет большое адаптивное значение в этих районах.

Образование меланина в организме придает ему устойчивость не только к ультрафиолету, но и ионизирующей радиации.

Так, у многочисленных видов микроскопических грибов, актиномицетов и некоторых бактерий бурые и черные меланиновые пигменты служат защитой от жестких электромагнитных излучений и являются основной причиной высокой устойчивости пигментированных микроорганизмов не только к ультрафиолетовому (в том числе и коротковолновому), но и к рентгеновскому излучению.

Штаммы микроорганизмов, содержащих меланиновые пигменты, настолько устойчивы к действию солнечного ультрафиолета и космических лучей, что живут и размножаются в высоких слоях атмосферы, горах, пустынях, Арктике и Антарктике – там, где другие микроорганизмы погибают. Меланин в определенных условиях увеличивает выживание даже после летальной дозы (ЛДюо) радиации [272].

Повышение естественного радиоактивного фона, обусловленное применением радиоактивных веществ, нарушением хранения радиоактивных отходов и т. д., способствует преимущественному развитию темнопигментированных грибов, некоторые из них выживают после облучения почвы дозой 6400 Гр [273]. Имеются сведения о преимущественной встречаемости меланинсодержащих видов грибов в почвенных образцах, отобранных после взрыва атомной бомбы в районе атолла Бикини [274].

В ряде работ [275, 276] показана повышенная радиоустойчивость черных мышей, а также появление гиперпигментации у белых и серых в результате продолжительного облучения их малыми дозами у-лучей.

При сравнении выживаемости у – облученных белых и черных штаммов дрожжей также выявлены различия, обусловленные присутствием в клетках черного пигмента меланиновой природы [277]. Клетки трансплантируемой меланомы хомячка, содержащие меланин, в 2 раза более устойчивы к летальному действию радиации, чем такие же клетки, лишенные пигмента [278].

По данным работы [279], облучение аксолотлей дозами 500, 1500, 3000 Р стимулировало процесс меланизации в печени, голове и глазах. Автор указывает, что такая гиперпигментация является защитной реакцией организма на облучение. Аналогичные данные получены и при облучении гипофиза лягушки у -лучами: усилилось образование меланинов в меланофорах кожи вследствие выделения интермедина из средней доли гипофиза и изменения обмена тирозина [280]. В первые часы после облучения в тканях облученных животных наблюдается усиление окисления тирозина [281].

Меланины животного происхождения способны взаимодействовать со многими радиоактивными элементами: цезием, радием, кобальтом, рутением, стронцием, торием, а также с радиоактивными изотопами цинка, кадмия, свинца, хрома, марганца и железа [282]. Было установлено, что меланин эффективно сорбирует ионы различных металлов [283]. Таким же образом меланины грибного происхождения сорбируют ионы РЬ, ТЬ, Н§, Ьа, 2л, Сз [284]. По-видимому, аналогичные свойства животного меланина ответственны за преимущественное накопление ^{226}К.а в пигментированных тканях животных, а

также в меланоме [285]. Если в среде концентрация ^{226}Ка составляет 25,1 Ки/кг, то в меланоме накапливается до 40-360 Ки/кг.

Как отмечал Н. И. Вавилов, в центрах формообразования растений (центры происхождения растений – по Н. И. Вавилову) преобладают сильно пигментированные формы. Отбор человеком светлоокрашенных форм растений при продвижении их культуры в северные районы означает, по мнению Щербакова [286], отбор форм, менее защищенных от мутагенных факторов по сравнению с пигментированными дикорастущими формами.

Очевидно, не случаен тот факт, что ткани растений, окружающие генеративные ткани, окрашены пигментами, которые, вероятно, должны обеспечивать их защиту от мутагенов. Наличие форм с высоким содержанием пигмента характерно для высокогорных областей с повышенным уровнем ультрафиолетовой радиации и космических лучей.

В ряде экспериментов были сделаны попытки использовать меланин для усиления биологической радиорезистентности. В работе [287] из гриба Рш1и1апа рго1ойчэрпа было выделено четыре фракции меланина, различающиеся растворимостью в щелочи и этаноле. Две из них оказывали защитное действие при облучении мышей рентгеновским излучением и увеличивали среднюю продолжительность жизни мышей в 1,5 раза. Добавление меланина в питательную среду существенно повышало выживаемость облученных культивируемых клеток соединительной ткани мышей [288], а внутрибрюшинное введение меланина белым мышам до облучения их в дозе 800 Р, кроме того, значительно увеличивало и продолжительность жизни [289].

Сведения о влиянии меланина на мутагенное действие радиации до начала наших исследований отсутствовали. Однако установлено, что фенолы могут связываться с ДНК, в частности с тимином [290]. Радиационное повреждение ДНК как раз и начинается с тимина, а меланин способен не только улавливать и обезвреживать свободные радикалы, но и регулировать концентрацию неспаренных электронов [278]. Кроме того, для ряда фенолов (На-галлат, пропилгаллат, кумарины и катехины) показана антимутагенная активность [291-293]. В качестве одной из гипотез, объясняющих их антимутагенную способность, предполагается взаимодействие фенолов с функциональными группами ДНК, которое может экранировать важные участки ДНК от действия мутагена или отводить избыточную энергию [292]. Это послужило предпосылкой для исследования способности меланина защищать наследственные структуры организма от индукции радиационных мутаций [294,295].

Исследование проведено на дрозофиле и мышах с использованием методик, описанных в гл. 3 и 4. Меланин получали путем аутоокисления ДОФА т УЙГО при рН 7-7,5. В этих условиях согласно работе [296] ДОФА спонтанно окисляется с образованием меланина по схеме:

Методы генетического мониторинга облучаемых популяций

Особенности методического подхода к генетическому мониторингу заключаются в том, что как компоненты приспособленности (численность, плодовитость, жизнеспособность), так и различные виды мутаций (доминантные летальные, рецессивные летальные и видимые) анализируются одновременно..

Так например, исследование проведено на экспериментальных популяциях ВгозорЬНа те!апо§а81ег на протяжении четырех лет (с 1980 по 1984г.). В 1980г. было заложено 12 популяций. Для этого использовали выборки по 200 особей из панмиктической популяции, которая была создана в 1971 г. из 8 изогенных линий, взятых в равном соотношении, и поддерживалась с тех пор в равновесном состоянии.

Популяции были разделены на четыре группы: 1) контрольные (К); 2) облучаемые (О); 3) обрабатываемые меланином (М) и 4) обрабатываемые меланином и облучаемые (МО).

Все популяции содержались в одинаковых условиях в банках (0,8 л): популяции К и О – на стандартной питательной среде, а популяции М и МО – на среде с добавлением меланина. Меланин получали путем аутоокисления ДОФА и вводили в питательную среду из расчета 0,5 мг/мл среды. Облучение рентгеновскими лучами проводили в каждом поколении дважды – на стадии трехдневных личинок в дозе 0,10 К л/кг и на стадии имаго в дозе 0,15 Кл/кг. Для облучения использовали РУМ-17: напряжение 200 кВ, сила тока 5 мА, фокусное расстояние 30 см, мощность дозы 6 • 10"^{4} А/кг, без фильтра. Взрослых особей и личинок облучали ненаркотизированными прямо в банках, через затянутое марлей горлышко банки. Дозу выбирали с учетом того, чтобы она была не слишком высокой, позволяющей популяциям нормально существовать, и не слишком низкой, вызывающей достаточное количество генетических изменений.

Каждое поколение после полного вылупления всех мух пересаживали в банки со свежей средой для откладки яиц на сутки, после чего удаляли, взвешивали и подсчитывали численность популяций.

Анализ плодовитости, жизнеспособности и мутационного груза проводили через 5 поколений. Первый анализ был сделан в первом поколении непосредственно после облучения взрослых особей. Все последующие анализы проводили до облучения имаго. Исследовали по две популяции каждого типа на протяжении 55 поколений. Численность определяли в каждом поколении, причем для подсчета числа особей использовали по 3 популяции каждого типа.

Для определения плодовитости из популяций брали выборки по 25-30 семей, каждая из которых состояла из 1 и 2 односуточного возраста. Эти семьи перебрасывали на свежую среду в течение 13 дней. Проводили подсчет яиц во всех кладках, а затем определяли среднее число яиц, отложенных одной самкой. Жизнеспособность потомства устанавливали в дни максимальной плодовитости (с 5-го по 7-й день) как отношение числа вылупившихся особей к числу отложенных яиц.

Статистическая обработка данных проводилась на ЭВМ „Мир-2". Достоверность различий экспериментальных данных подтверждена по критериям Стьюдента, Уилкоксона и критерию знаков.

Динамика численности особей

Анализ экспериментальных данных показал, что характер изменения численности во всех трех контрольных популяциях идентичен – резкие подъемы сменяются резкими спадами от поколения к поколению. Характерная кривая колебания численности в контрольных популяциях приведена на рис. 6.1,а. (На рис. 6.1, 6.2 приводятся те участки кривых динамики численности, на которых произошло снижение или повышение уровня колебаний численности.)

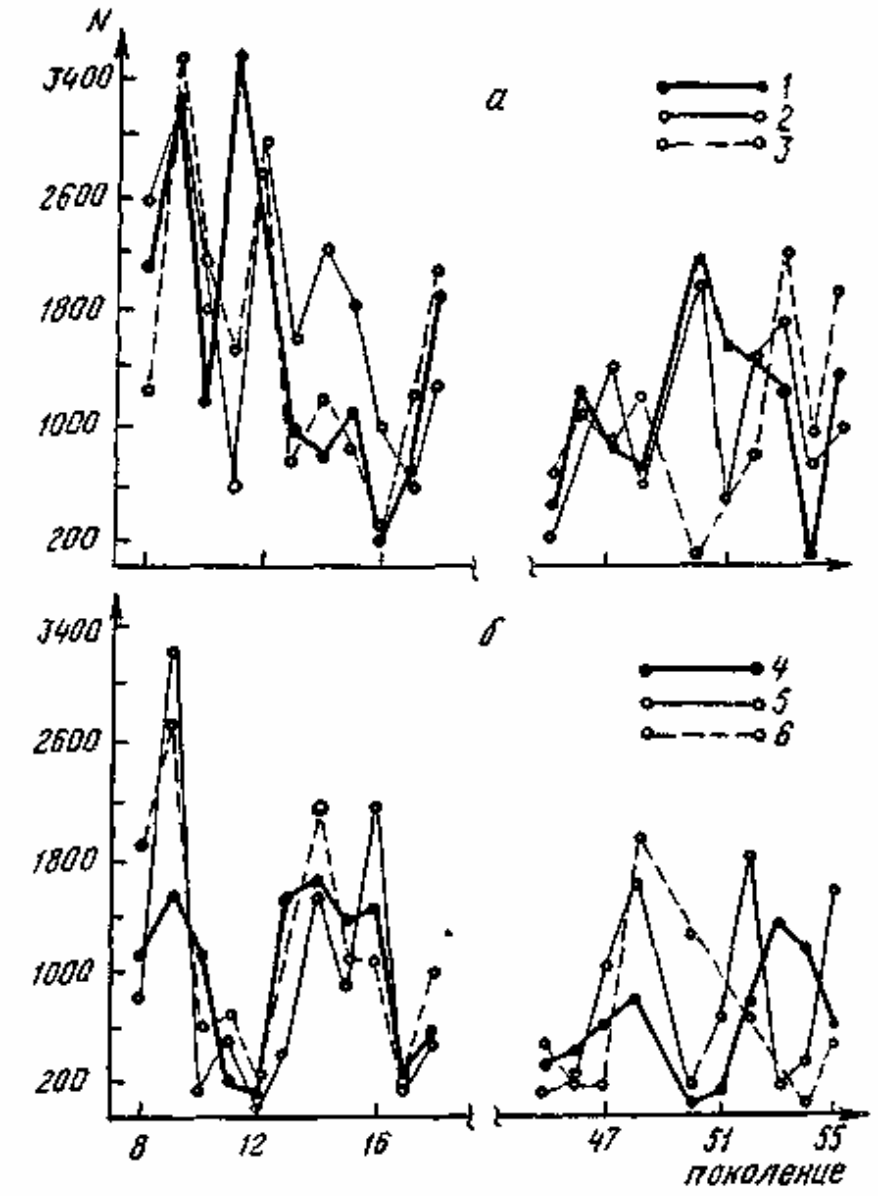


Рис. 6.1. Динамика численности контрольных (а) и облучаемых (б) популяций дрозофилы: 1- K_1; 2 – K_2; 3 – K_3; 4 – O_1; 5 – O_2; 6 – O_3; N – количество особей

Колебания численности популяций животных изучены многими авторами. Так, в работе [325] автор отмечала, что с увеличением плотности популяций число взрослых потомков падает. При содержании культур в бутылочках с искусственной средой после достижения популяцией наибольшего размера ее численность резко падает, вплоть до гибели культур. Данные о регулярных колебаниях численности дрозофилы, не связанных с каким-либо изменением внешней среды, приведены в работе [326]. Причем пары особей, взятые из популяции в период депрессии, имели большую плодовитость по сравнению с особями, изолированными в период пика численности. При изучении 38 природных популяций, обитавших в Бразилии, обнаружены 12-недельные циклы колебаний численности [327]. Каждый цикл имеет четыре четкие фазы: сокращение, подъем, вспышку и снижение. В фазе вспышки число особей в популяции в 10 раз больше, чем в фазе сокращения. Существование флуктуации численности экспериментальных популяций дрозофилы (как имаго, так и личинок) отмечают и другие авторы [328].

Известно, что при чрезмерном увеличении общей численности особей в популяции происходит снижение плодовитости, что приводит к снижению численности популяции в следующем поколении. Полученные нами данные можно объяснить этой закономерностью.

Обращает на себя внимание факт, что характер колебаний численности за 55 поколений мониторинга мало изменился, но если вначале эти колебания находились в пределах от 600 до 3500 особей, то начиная примерно с 13-го поколения численность контрольных популяций колеблется на более низком уровне – от 100 до 2000 (см. рис. 6.1, а). Возможно, таким путем популяции приспособились к тому объему, в котором им пришлось существовать (банки объемом 0,8 л), поскольку исходная популяция содержалась в большом популяционном ящике. Динамика численности в облученных популяциях имеет такой же характер и тоже идентична во всех 3 популяциях (см. рис. 6.1, а). Вначале численность популяций О колебалась в тех же пределах, что и в популяциях К. В 10-м поколении в облученных популяциях произошло первое снижение численности – она стала колебаться в пределах от 100 до 2500 особей по сравнению с исходными колебаниями от 800 до 3200, а с 25-го поколения колебания численности переместились на еще более низкий уровень – от 50 до 1600 особей. Таким образом, численность облученных популяций стала ниже, чем контрольных, что отразилось и на средних значениях за 55 поколений (табл. 6.1).

Колебания численности популяций, выращенных на среде с меланином, вначале имели больший размах, чем контрольные. (Так, например, в 10-м поколении численность популяции M_2 достигла 4343 особей (см. рис. 6.2, а), тогда как самая высокая численность в контрольных популяциях не превышала 3522 особей.) Однако с 35-го поколения колебания численности популяций К и М сравнялись и до конца мониторинга оставались на одном уровне.

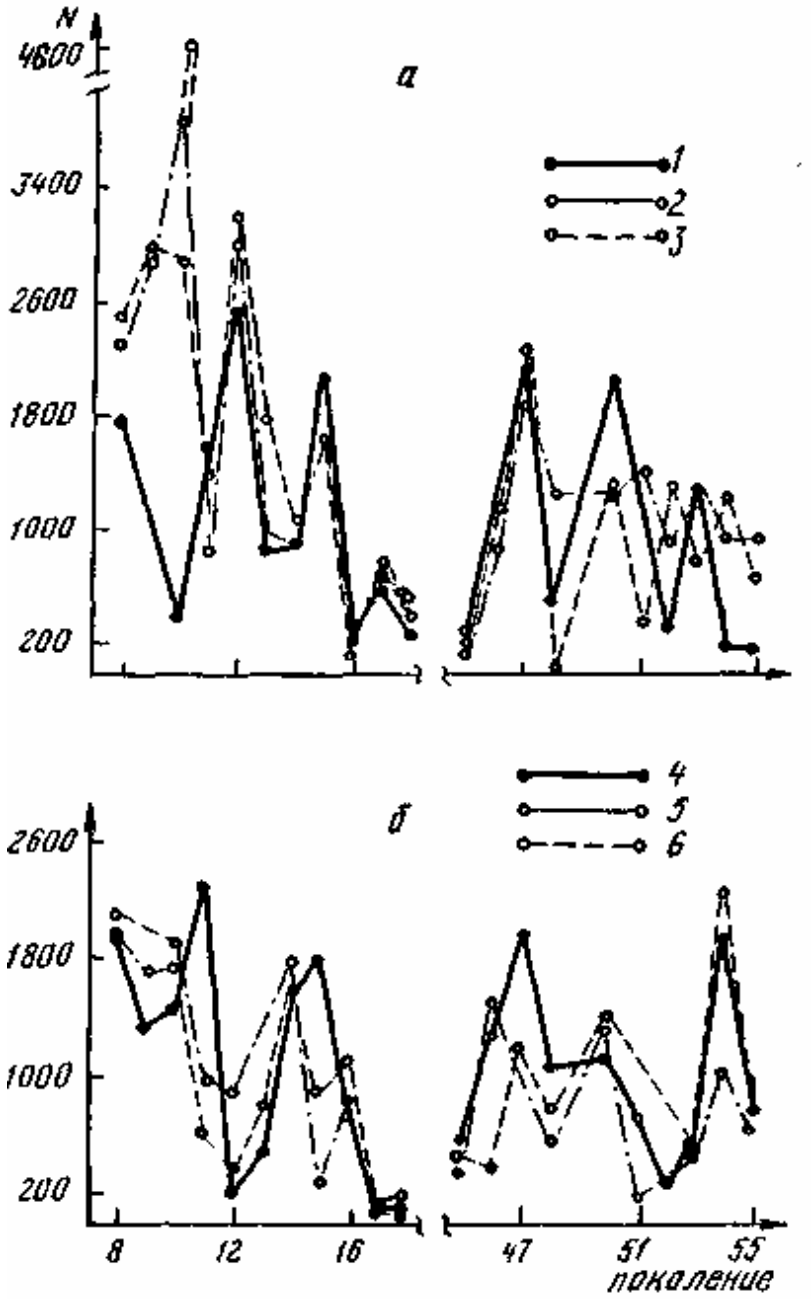


Рис. 6.2. Динамика численности популяций дрозофилы при воздействии меланина (в) и комбинированном воздействии меланина и облучения (б): 1 – M_1; 2 – M_2; 3 – M_3; 4 – MO_1; 5 – MO_2; 6 – MO_3

В популяциях МО динамика численности имела более сложный характер: до 32-го поколения она колебалась от 200 до 2300 особей, а затем до 45-го поколения наблюдалось резкое снижение численности (колебания на уровне от 200 до 950) -до более низкого уровня, чем в облученных популяциях, а затем численность популяций МО стала выше, чем в облученных, и достигла уровня контрольных (рис. 6.2, б). В среднем за 55 поколений мониторинга численность популяций К и М, а также О и МО оказалась примерно одинаковой (см. табл. 6.1).

Таблица 6.1. **Средняя численность популяций дрозофилы разных типов за 55 поколений мониторинга**

Популяция	Поколение					Среднее за 55 поколений
	1–15	16–25	26–35	36–45	46–55	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
K_1	1754	1015	1531	768	1199	1230 ± 117
K_2	2131	696	1526	865	1124	1233 ± 109
K_3	1684	998	1036	946	1032	1137 ± 114
$K_{ср}$	1856	903	1364	859	1118	1200 ± 65
M_1	1610	1235	770	883	1047	1133 ± 116
M_2	2123	1077	454	683	1222	1142 ± 132
M_3	2084	817	925	969	912	1148 ± 128
$M_{ср}$	1939	1043	716	845	1060	1141 ± 73
O_1	1222	1009	921	725	659	882 ± 75
O_2	1164	1106	841	763	845	948 ± 93
O_3	1464	1161	594	682	851	937 ± 103
$O_{ср}$	1283	1032	785	724	785	922 ± 52*
$M + O_1$	1425	969	759	521	1096	954 ± 37
$M + O_2$	1505	1042	482	574	753	871 ± 89
$M + O_3$	1411	872	1161	535	1033	1025 ± 99
$M + O_{ср}$	1447	961	801	543	961	950 ± 53

* $t_{K_{ср} - O_{ср}} = 3{,}36$. Здесь и далее значение t рассчитано по критерию Стьюдента.

Определение коэффициентов корреляции численности популяций показало наличие существенной степени корреляции в изменении численности популяций одного и того же типа – коэффициенты корреляции лежат в пределах от 0,39 до 0,80 (табл. 6.2). Это дает право объединить численность трех популяций каждого типа в одну и сравнить численность таких объединенных популяций К, М, О и МО между собой. Как показано в табл. 6.3, более высокая корреляция наблюдается между численностью популяций К и М (коэффициент корреляции равен 0,39 ±0,08), на втором месте – пары О и МО, а также М и МО (коэффициенты корреляции равны 0,27 ±0,09 и 0,29 ±0,09 соответственно). Самая низкая корреляция между К и О, а также М и О.

Таким образом, численность особей в экспериментальных популяциях в контроле и при воздействии облучением и меланином колеблется волнообразно, причем сезонных изменений в колебаниях численности не отмечено; периодическое облучение популяций в дозе 0,25 Кл/кг в течение каждого поколения приводит к снижению численности популяций в 1 -55-м поколениях примерно на 20 %, а в конце мониторинга (в 45-55-м поколениях) – в среднем на 30 %\ содержание популяций на среде с меланином на колебания численности в популяциях существенно не влияет.

Таблица 6.2. **Коэффициенты корреляции при сравнении численности исследованных популяций дрозофилы**

Сравниваемые популяции	Коэффициент корреляции	Сравниваемые популяции	Коэффициент корреляции
$K_1 - K_2$	$0,46 \pm 0,14$	$O_1 - O_2$	$0,65 \pm 0,12$
$K_1 - K_3$	$0,42 \pm 0,14$	$O_1 - O_3$	$0,70 \pm 0,11$
$K_2 - K_3$	$0,39 \pm 0,14$	$O_2 - O_3$	$0,74 \pm 0,11$
$M_1 - M_2$	$0,43 \pm 0,14$	$MO_1 - MO_2$	$0,59 \pm 0,13$
$M_1 - M_3$	$0,44 \pm 0,14$	$MO_1 - MO_3$	$0,64 \pm 0,13$
$M_2 - M_3$	$0,80 \pm 0,09$	$MO_2 - MO_3$	$0,55 \pm 0,13$

Таблица 6.3. **Коэффициенты корреляции при сравнении численности популяций дрозофилы после разных воздействий**

Популяции	Контроль	Меланин	Облучение
M	$0,39 \pm 0,08$		
O	$0,18 \pm 0,09$	$0,10 \pm 0,09$	
M + O	$0,03 \pm 0,09$	$0,29 \pm 0,09$	$0,27 \pm 0,09$

Динамика плодовитости особей

Динамика плодовитости особей в популяциях разных типов показана на рис. 6.3. Плодовитость особей во всех популяциях подвержена существенным колебаниям, не связанным с экспериментальными воздействиями. В экологии популяций хорошо известны „популяционные волны" – резкие колебания численности, захватывающие разное количество поколений. Численность особей в популяциях при этом может изменяться на 5 порядков. Известны такие колебания, или осцилляции, и для лабораторных популяций дрозофилы. Вспышки численности сопровождаются снижением плодовитости, и наоборот. Причинами осцилляции считают как внутрипопуляционные процессы, так и влияние внешних по отношению к популяции факторов, например воздействие комплекса экологических факторов, включая и космические. Наблюдаемые нами колебания плодовитости (на порядок) во всех популяциях одновременно обусловлены, очевидно, естественными причинами. Однако внутри этих колебаний можно выявить различия, присущие популяциям разных типов и обусловленные нашими экспериментальными воздействиями (рис. 6.3). Особенно это заметно на рис. 6.4, где плодовитость особей в облучаемых популяциях и популяциях с меланином сравнивается с таковой в контроле. Так, в начале мониторинга плодовитость особей в обеих облученных популяциях была ниже, чем в контрольных. Это вполне согласуется с общеизвестным положением о том, что воздействие ионизирующей радиацией снижает плодовитость животных. Однако в дальнейшем этот показатель начинает возрастать. В популяции 0± плодо-

витость особей к 25-30-му поколениям достигает контрольного уровня, а затем несколько превышает контроль. В популяции 0_2 уже к 10-15-му поколениям плодовитость особей достигает уровня контроля и затем превышает его. (Данные, полученные при анализе популяций I и II групп, приведены в табл. 6.4 и 6.5.).

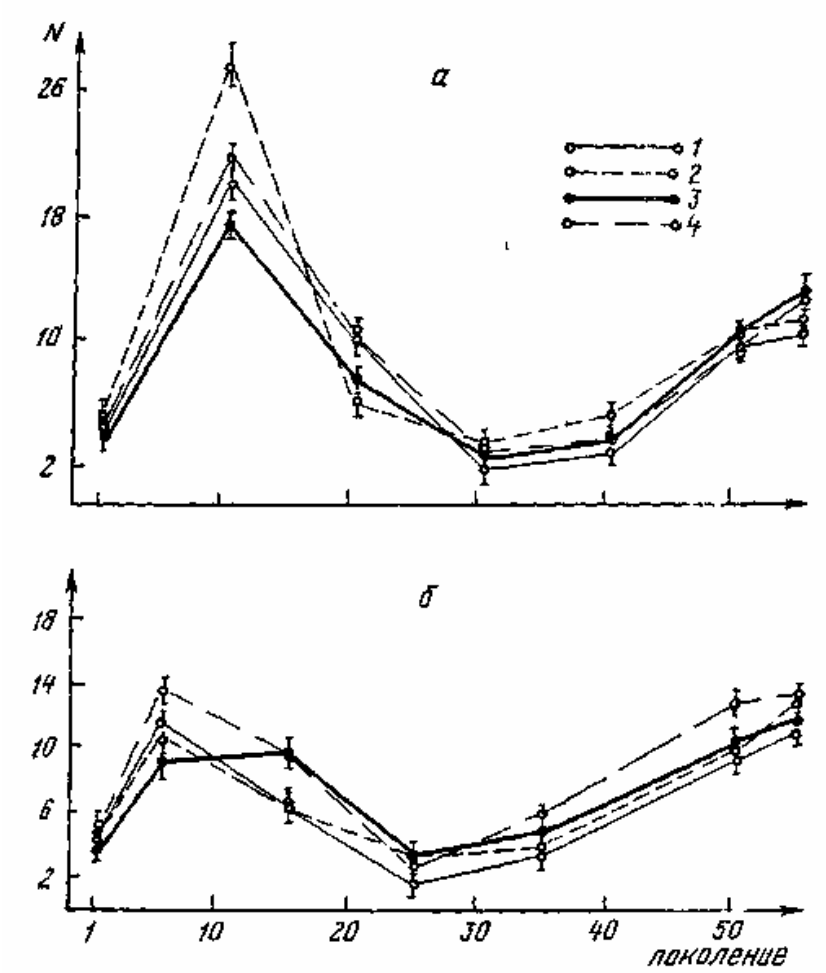


Рис. 6.3. Динамика плодовитости особей I (а) и II (б) групп в популяции дрозофилы: 1 – контроль, 2 – меланин; 3 – облучение; 4 – меланин + облучение; N – количество яиц на 1 самку в день

Увеличение плодовитости особей в облученных популяциях по сравнению с контрольными кажется неожиданным. Однако в литературе есть сведения о плодовитости популяций с „радиационной историей". Так, в работе [315] подробно изучена генетическая структура популяции дрозофилы, подвергавшейся длительному воздействию рентгеновским излучением. Автор указывает, что вначале облучение вызывало уменьшение фертильности популяции, но затем произошла адаптация популяций к воздействию радиации. Эта адаптация обусловлена повышенной скоростью яйцекладки: особи из популяции, подвергавшейся длительному облучению на протяжении 220 поколений, вследствие высокой плодовитости давали больше потомков, чем контрольные.

Аналогичные данные получены и при облучении восковой моли: в 6-м поколении в опыте было получено больше бабочек, чем в контроле [329].

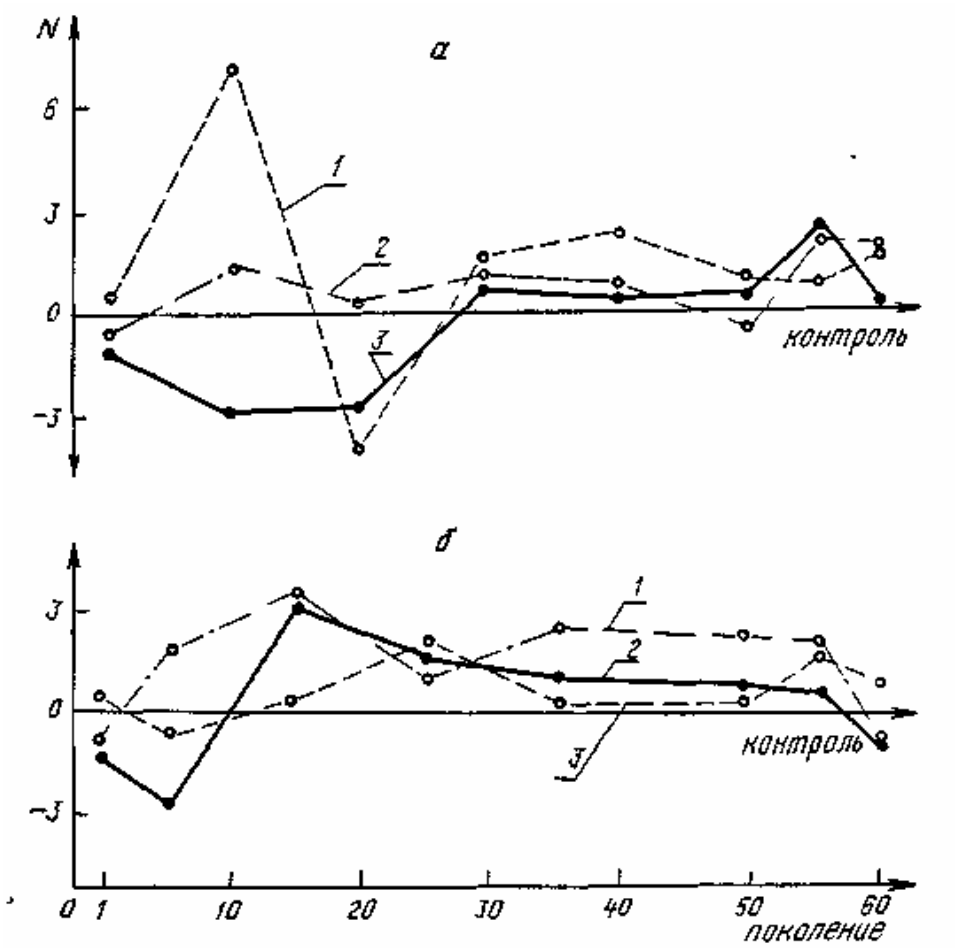


Рис. 6.4. Сравнение плодовитости особей О, М и МО и плодовитости особей К I (а) и II (б) групп в популяции дрозофилы: 1 – меланин, 2 – меланин + Х-лучи, 3 – Х-лучи

Таблица 6.4. **Плодовитость особей в экспериментальных популяциях дрозофилы I группы**

Параметр плодовитости	Поколение									
	1	10	20	1–20	30	40	50	55	30–55	1–55
Контрольная популяция										
Число самок	20	20	25	65	26	34	16	19	95	160
Число яиц:										
за 13 дней	1326	5569	2276	9171	736	1394	2066	2463	6659	15 830
на 1 ♀ в день	5,1 ± 0,1	20,4 ± 0,5	10,1 ± 0,1	11,9 ± 0,3	2,2 ± 0,1	3,2 ± 0,2	9,9 ± 0,2	10,5 ± 0,1	5,4 ± 0,1	7,6 ± 0,2
Популяция, обрабатываемая меланином										
Число самок	21	16	23		28	33	19	18		158
Число яиц:										
за 13 дней	1437	5727	1844		1391	2255	2628	2493		17 775
на 1 ♀ в день	5,3 ± 0,2	27,5 ± 0,4	6,2 ± 0,1		3,8 ± 0,1	5,3 ± 0,1	7,3 ± 0,1	11,4 ± 0,1		8,7 ± 0,2
Облучаемая популяция										
Число самок	16	24	28	68	27	35	17	16	95	163
Число яиц:										
за 13 дней	808	5505	2629	8942	1030	1690	2298	2677	7695	16 637
на 1 ♀ в день	3,9 ± 0,1	17,6 ± 0,2	7,4 ± 0,1	10,2 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1	9,8 ± 0,2	12,9 ± 0,3	6,2 ± 0,1	7,9 ± 0,2
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая										
Число самок	21	24	24		29	35	20	20		173
Число яиц:										
за 13 дней	1187	5729	3187		1227	1724	2427	2946		18 427
на 1 ♀ в день	4,4 ± 0,1	21,8 ± 0,2	10,2 ± 0,2		3,3 ± 0,1	3,8 ± 0,1	9,4 ± 0,1	12,6 ± 0,2		8,2 ± 0,1

Примечание. С 1-го по 20-е поколение $t_{К-О} = 5{,}4$ и с 30-го по 55-е $t_{К-О} = 5{,}1$; с 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 5{,}0$, а $t_{О-МО} = 2{,}5$.

Таблица 6.5. **Плодовитость особей в экспериментальных популяциях дрозофилы II группы**

Параметр плодовитости	Поколение									
	1	5	1–5	15	25	35	50	55	15–55	1–55
Контрольная популяция										
Число самок	20	21	41	23	20	24	19	15	101	142
Число яиц:										
за 13 дней	1326	3158	4484	1926	492	1198	2412	2391	8419	12903
на 1 ♀ в день	5,1±0,1	11,8±0,2	8,5±0,2	6,4±0,1	1,9±0,2	3,9±0,1	6,7±0,1	11,5±0,3	6,4±0,1	7,0±0,1
Популяция, обрабатываемая меланином										
Число самок	21	25		26	27	22	18	20		159
Число яиц:										
за 13 дней	1437	3520		2148	1348	1180	2372	3257		15262
на 1 ♀ в день	5,3±0,2	11,0±0,2		6,6±0,1	3,8±0,1	4,1±0,1	10,1±0,1	13,2±0,1		7,4±0,1
Облучаемая популяция										
Число самок	16	22	38	24	26	27	17	16	110	148
Число яиц:										
за 13 дней	808	2646	3454	3038	1145	1658	2293	2494	10628	14082
на 1 ♀ в день	3,9±0,1	9,2±0,2	7,0±0,2	9,7±0,1	3,3±0,1	4,7±0,1	10,4±0,2	12,0±0,2	7,4±0,1	7,3±0,1
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая										
Число самок	21	26		22	20	23	20	17		149
Число яиц:										
за 13 дней	1187	4539		2791	743	1832	3088	2952		17132
на 1 ♀ в день	4,4±0,1	13,6±0,2		9,8±0,2	2,9±0,1	6,1±0,1	11,9±0,1	13,4±0,1		8,9±0,1

Примечание С 1-го по 5-е поколение $t_{К-О} = 5{,}8$ и с 15-го по 55-е $t_{К-О} = 5{,}6$, с 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 2{,}7$, а $t_{О-МО} = 11{,}5$

Наблюдаемое в наших опытах увеличение средней плодовитости особей в облученных популяциях по сравнению с необлученными может свидетельствовать о наступлении резистентности этих популяций к воздействию рентгеновских лучей.

Анализируя плодовитость особей в популяциях, получавших с питательной средой меланин, можно заметить, что в обеих группах популяций воздействие меланина повышает плодовитость особей. Так, в популяциях М плодовитость выше, чем в популяциях К, а в популяциях МО – выше, чем в популяциях О. В среднем за 55 поколений меланин повышает плодовитость необлученных популяций в I группе с 7,7 до 8,7 яиц на самку в день ($t = 3{,}6$), а во II – с 7,0 до 7,4 яиц ($t = 2{,}7$). В облученных популяциях этот показатель увеличился в I группе с 7,9 до 8,2 ($t = 2{,}5$), а во II – с 7,3 до 8,9 яиц на самку в день ($t = 11{,}5$).

Динамика жизнеспособности особей

Динамика жизнеспособности особей в популяциях разных групп значительно различается, причем не только в популяциях, подвергавшихся экспериментальным воздействиям, но и в контрольных (рис. 6.5).

Известно, что колебания жизнеспособности особей в популяциях зависят от изменений численности. При личиночном перенаселении наиболее очевидное следствие, которое в порядке обратной связи будет ограничивать численность популяции – смертность на предимагинальных стадиях развития. Во многих опытах при увеличении числа личинок в культуре наблюдалось уменьшение размера куколок и имаго, удлинение времени развития (в основном на личиночной стадии), увеличение разброса вылупления мух и, наконец, повышение смертности особей на разных стадиях развития [241].

Таким образом, влияние численности популяций на жизнеспособность особей может действовать в одном направлении с эффектом облучения, и тогда их эффекты суммируются, а иногда – в разных направлениях, нивелируя при этом влияние облучения.

Данные по изменению жизнеспособности потомства в популяциях на протяжении 55 поколений мониторинга представлены в табл. 6.6-6.8.

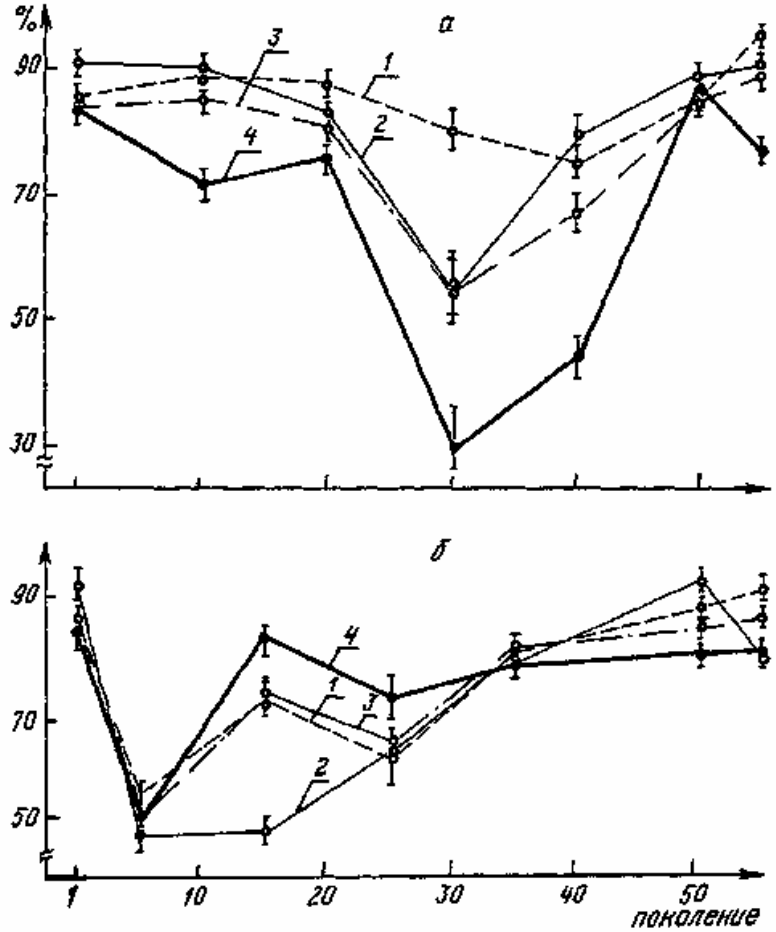


Рис. 6.5. Динамика жизнеспособности особей I (а) и II (б) групп в популяции дрозофилы: 1 – меланин; 2 – контроль; 3 – меланин + облучение; 4 –облучение

Анализируя влияние облучения на жизнеспособность, можно заметить, что в популяции 0_1 (рис. 6.4, а, табл. 6.6) этот показатель значительно ниже контрольного уровня практически в течение всего периода мониторинга (за исключением 50-го поколения). В то же время в популяции 0_2 (рис. 6.4, б, табл. 6.7) жизнеспособность особей сначала резко уменьшается (5-е поколение), а затем столь же резко возрастает и лишь с 30-го поколения устанавливается ниже контрольного уровня. Необходимо отметить, что резкое падение жизнеспособности в 5-м поколении наблюдалось одновременно во всех четырех популяциях данной группы ($К_2$, 0_2, $М_2$, $М0_2$) и, следовательно, было вызвано неучтенным нами фактором: контрольная популяция вышла из этого кризиса позднее всех других.

Таблица 6.7. **Жизнеспособность особей в экспериментальных популяциях дрозофилы II группы**

Параметр жизнеспособности	Поколение							
	1	5	15	25	35	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число яиц	299	903	648	46	354	835	517	3602
Число имаго	275	469	338	30	280	772	413	2577
ЖЗН, %	92,3 ± 1,5	51,9 ± 1,6	51,1 ± 1,9	65,2 ± 8,0	79,4 ± 2,2	92,5 ± 0,9	79,9 ± 1,8	71,5 ± 0,8
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число яиц	330	1179	544	94	378	818	698	4041
Число имаго	288	697	398	61	305	726	630	3105
ЖЗН, %	87,0 ± 1,8	59,1 ± 1,4	73,2 ± 1,9	64,7 ± 5,6	80,7 ± 2,0	88,8 ± 1,1	90,3 ± 1,1	76,8 ± 0,7
Облучаемая популяция								
Число яиц	120	756	826	148	409	781	566	3606
Число имаго	101	413	687	109	321	624	453	2708
ЖЗН, %	84,0 ± 3,3	54,7 ± 1,8	83,1 ± 1,3	73,6 ± 4,3	78,3 ± 2,0	80,0 ± 1,4	79,9 ± 1,7	75,1 ± 0,7
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число яиц	280	1356	680	181	453	927	763	4640
Число имаго	236	744	504	123	369	788	661	3425
ЖЗН, %	84,2 ± 2,2	54,8 ± 1,3	74,1 ± 1,6	67,1 ± 4,0	81,8 ± 1,8	84,9 ± 1,2	86,6 ± 1,2	73,8 ± 0,6

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 5{,}3$.

Влияние меланина в популяциях разных групп тоже неоднозначно: в I группе меланин повышает жизнеспособность особей в облученных популяциях с 74,1 ± 0,7 до 83,7 ± 0,6 % (t = 10,4), а во II, где жизнеспособность облучаемых популяций выше, чем в контрольных, его влияние не проявляется. В необлучаемых популяциях, наоборот, благоприятное влияние меланина обнаруживается во II группе, где жизнеспособность контрольных популяций низкая (76,8 ±0,7 % в популяции $М_2$ и 71,5 ±0,8 % в популяции $К_2$, t = 5,3), а в I группе нет. Однако, исходя из рис. 6.5, можно заключить, что популяции М и МО в обеих группах более стабильны, менее подвержены резким спадам жизнеспособности, чем контрольные. Если суммировать данные по жизнеспособности в обеих группах, то получим достоверное снижение этого показателя под влиянием облучения и достоверное повышение жизнеспособности облучаемых и необлучаемых популяций под влиянием меланина (табл. 6.8).

Таблица 6.6. **Жизнеспособность (ЖЗН) особей в экспериментальных популяциях дрозофилы I группы**

Параметр жизнеспособности	Поколение							
	1	10	20	30	40	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число яиц	299	1063	835	73	193	603	539	3605
Число имаго	275	977	697	40	155	532	486	3162
ЖЗН, %	92,3 ± 1,5	91,8 ± 0,8	83,5 ± 1,3	54,8 ± 5,8	79,8 ± 2,9	88,3 ± 1,3	90,1 ± 1,3	88,7 ± 0,5
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число яиц	330	1055	650	177	361	854	659	4086
Число имаго	288	951	571	143	271	730	627	3581
ЖЗН, %	87,0 ± 1,8	90,1 ± 0,9	88,0 ± 1,3	80,9 ± 3,0	75,0 ± 2,3	85,3 ± 1,2	95,1 ± 0,8	87,6 ± 0,5
Облучаемая популяция								
Число яиц	120	1177	788	72	302	657	588	3704
Число имаго	101	853	604	21	134	577	454	2744
ЖЗН, %	84,0 ± 3,3	72,4 ± 1,2	76,9 ± 1,5	29,2 ± 5,4	44,3 ± 2,9	87,9 ± 1,3	77,1 ± 1,7	74,1 ± 0,7
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число яиц	280	1435	410	77	315	769	823	4109
Число имаго	236	1229	332	43	214	645	739	3438
ЖЗН, %	84,2 ± 2,2	85,6 ± 1,0	81,0 ± 1,9	55,6 ± 5,7	67,7 ± 2,6	83,9 ± 1,3	89,8 ± 1,1	83,7 ± 0,6

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-О} = 15{,}8$; $t_{О-МО} = 10{,}4$.

Интересен обнаруженный нами факт повышения плодовитости и жизнеспособности особей под влиянием меланина.

Меланин обладает рядом физико-химических свойств, которые позволяют предположить, что его радиозащитное действие связано с перехватом энергии облучения [330]. Этот механизм может объяснить повышение плодовитости и жизнеспособности особей в облучаемых популяциях. Не исключено, что меланин обладает и другими свойствами, обеспечивающими повышение плодовитости и «стабилизацию» жизнеспособности особей в необлучаемых популяциях. Например, нарушение меланинообразования у животных снижает их жизнеспособность и плодовитость, что объясняется участием меланина в гормональной регуляции [331].

Таблица 6.8. **Жизнеспособность особей в экспериментальных популяциях дрозофилы I и II групп суммарно за 55 поколений**

Параметр жизнеспособности	Группы популяций		
	I	II	I + II
	Контрольная популяция		
Число яиц	3605	3602	7207
Число имаго	3162	2577	5739
ЖЗН, %	87,7 ± 0,5	71,5 ± 0,8	79,6 ± 0,5
	Популяция, обрабатываемая меланином		
Число яиц	4086	4041	8127
Число имаго	3581	3105	6686
ЖЗН, %	87,6 ± 0,5	76,8 ± 0,7	82,3 ± 0,4
	Облучаемая популяция		
Число яиц	3704	3606	7310
Число имаго	2744	2708	5452
ЖЗН, %	74,1 ± 0,7	75,1 ± 0,7	74,6 ± 0,5
	Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая		
Число яиц	4109	4640	8749
Число имаго	3438	3425	6863
ЖЗН, %	83,7 ± 0,6	73,8 ± 0,6	78,4 ± 0,4

Примечание. Суммарно по двум группам популяций $t_{К-М} = 4{,}2$; $t_{К-О} = 7{,}2$; $t_{О-МО} = 5{,}7$.

Взаимосвязь элементов приспособленности

В популяциях существует обратная связь между численностью особей, с одной стороны, и их жизнеспособностью и плодовитостью – с другой [332,333]. При высокой плотности популяций плодовитость и жизнеспособность особей снижаются, а при низкой увеличиваются. За счет этого и происходит регуляция численности популяций.

Нами проанализирована связь между колебаниями численности особей и динамикой элементов приспособленности в экспериментальных популяциях. Для этого были вычислены коэффициенты множественной корреляции R между динамикой количества особей в поколениях, предшествующих анализу, и

изменениями плодовитости и жизнеспособности выборок особей, взятых для анализа из этих популяций, а также коэффициенты парной корреляции r между численностью, плодовитостью и жизнеспособностью особей.

В контрольных популяциях коэффициент множественной корреляции достаточно высок, что может свидетельствовать о наличии корреляции между анализируемыми показателями (табл. 6.9). Однако по F-критерию полученное значение недостоверно, очевидно, из-за малой выборки (n = 12). Между численностью и жизнеспособностью наблюдается достоверная отрицательная корреляция, а между плодовитостью и жизнеспособностью – положительная, что вполне согласуется с положением о существовании обратной связи между численностью особей в популяциях, их плодовитостью и жизнеспособностью.

Таблица 6.9. **Коэффициенты корреляции при сравнении численности, плодовитости и жизнеспособности особей в популяциях разных типов**

Сравниваемый показатель	Коэффициенты корреляции					
	парной r				множественной R	
	r	t_r	r	t_r	R	F^*
	численность		жизнеспособность		численность	
Контрольные популяции						
Плодовитость	−0,1646	0,56	0,5596	2,70	0,6271	2,92
Жизнеспособность	−0,5936	3,04				
Популяции, обрабатываемые меланином						
Плодовитость	−0,0301	0,09	0,5135	2,21	0,2437	0,25
Жизнеспособность	0,1921	0,63				
Облучаемые популяции						
Плодовитость	0,1780	0,61	0,4386	1,80	0,2826	0,39
Жизнеспособность	−0,1193	0,40				
Популяции, обрабатываемые меланином и облучаемые						
Плодовитость	0,4385	1,80	0,6580	3,85	0,6819	3,91
Жизнеспособность	−0,1047	0,35				

* При значении $F = 4{,}10$ $P = 0{,}05$.

Однако корреляций между плодовитостью и численностью в предыдущем поколении нами выявлено не было.

В то же время визуально мы замечали, что при пересадке на свежую среду популяций с высокой численностью особей, за сутки бывает отложено яиц меньше, чем в случае малочисленных популяций. Возможно, при перенаселении главную роль играет эффект присутствия большого количества особей. Самки в таких популяциях могут обладать меньшей плодовитостью. В то же время показано [334], что влияние плотности на плодовитость не связано с блокированием яйцекладки. При перенаселении яичники самок функционируют, однако интенсивность оогенеза снижается, уменьшается количество зрелых яиц

и овариол. Кроме того, в откладке яиц может принимать участие меньшее количество самок.

Известно, что в перенаселенной популяции возрастание доли неоплодотворенных самок может быть следствием, как стерильности самцов, так и рецептивности самок. Кроме того, с увеличением плотности популяций возрастает интенсивность соревнований самцов за спаривание и увеличивается разница между успешными и неуспешными самцами. Когда же при анализе плодовитости каждая семья (1 ♀ и 2 ♂) помещалась в отдельный флакон со средой (согласно общепринятой методике), то условия для откладки яиц были гораздо благоприятнее, чем в перенаселенной популяции. Это может быть причиной того, что определяемая при анализе плодовитость выборочных семей не коррелирует с численностью особей в популяциях, из которых эти особи взяты. Возможно и другое объяснение. Резкий подъем численности не всегда сменяется резким спадом (см. рис. 6.1 и 6.2). Наблюдаются и такие периоды, когда численность популяций на протяжении 2-3 поколений держится примерно на одном уровне или продолжает изменяться в одном и том же направлении. Если исследование элементов приспособленности попадает на такой период, то ожидаемой корреляции между численностью и плодовитостью не будет. При сравнении численности исследованных популяций в предшествующих анализу поколениях и численности последующих нами выявлено большое количество периодов „относительной стабильности" численности популяций, как раз совпавших с проводимыми каждые пять поколений анализами генетического груза. Больше всего таких совпадений оказалось в популяции $МО_1$ – это поколения 9-10, 14-15, 29-30, 44-45, 50-51. В остальных популяциях было обнаружено от 2 до 4 таких совпадений.

Совпадение времени анализа с периодами стабильности может объяснить низкие коэффициенты корреляции между численностью и плодовитостью в предшествующем поколении и исследуемых популяциях.

В ряде литературных источников также приводятся сведения о слабой генетической корреляции между компонентами приспособленности [335, 336]. В работе [335] изучены корреляции между различными компонентами приспособленности и их чувствительностью к плотности популяций. При этом ожидалось, что чувствительность этих компонентов к плотности должна быть скоррелирована. Из 16 изученных случаев не было обнаружено какой-либо корреляции. Следовательно, корреляция между элементами приспособленности не всегда четко прослеживается. Еще сложнее ее обнаружить при воздействии на популяции экспериментальных факторов.

В облучаемых популяциях, исследованных нами, все коэффициенты корреляции были низкие (см. табл. 6.9). Это указывает на нарушение корреляционных связей между численностью и элементами приспособленности при облучении. Интересно, что в популяциях МО коэффициенты корреляции приближаются к таковым в контрольных популяциях, что свидетельствует о нормализующем влиянии меланина на соотношение исследуемых параметров в облучаемых популяциях.

В то же время в популяциях М существенная корреляция обнаружена только между плодовитостью и жизнеспособностью особей. Поскольку меланин повышает оба этих показателя, то положительная корреляция между ними понятна. Можно предположить, что увеличение плодовитости и жизнеспособности особей под действием меланина каким-то образом нарушает их корреляцию с численностью (t = 0,24). Облучение тоже нарушает эту корреляцию. Так как облучение снижает жизнеспособность и плодовитость, а меланин повышает их, то в популяциях МО влияние этих двух факторов нивелирует друг друга и величина корреляции близка к таковой в контрольных популяциях.

Таким образом, динамика элементов приспособленности популяций имеет сложный характер. Колебания численности, плодовитости и жизнеспособности особей в популяциях зависят от многих сопутствующих условий, что усложняет исследование влияния экспериментальных факторов на эти показатели. Тем не менее, можно сделать некоторые выводы об эффектах, вызываемых в популяциях длительными воздействиями рентгеновского излучения и антимутагена меланина. Например, жизнеспособность особей в облучаемых популяциях в среднем ниже, чем в контрольных. Плодовитость под влиянием облучения сначала уменьшается, а затем повышается, превосходя контрольный уровень. Однако это повышение плодовитости не полностью компенсирует сниженную жизнеспособность особей, что приводит к некоторому снижению численности облучаемых популяций по сравнению с контрольными.

Введение меланина в питательную среду способствует повышению плодовитости особей, что проявляется как в облучаемых, так и в необлучаемых популяциях. Жизнеспособность популяций под влиянием меланина как бы „стабилизируется": в популяциях, получавших с питательной средой меланин, жизнеспособность особей меньше подвержена резким колебаниям, чем в контрольных [337, 33

Мониторинг мутационного груза: Анализ рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций

Мутационный груз оценивали по трем типам мутаций – РЛМ, ВМ и ДЛМ. Поскольку определение частот РЛМ и ВМ – процесс трудоемкий и длительный, для облегчения задачи нами была синтезирована линия дрозофилы, обозначенная буквой S. Эта линия дает возможность проводить генетический мониторинг одновременно (без дополнительной затраты времени и труда) по двум типам мутаций – РЛМ и ВМ (рис. 7.1).

В линии S Х-хромосома происходит от линии Мёллер-5 и имеет маркерные гены yellow и white, вторая хромосома имеет маркер vestigial, а третья – ebony. Все эти мутации хорошо различаются невооруженным глазом и находятся во всех основных хромосомах генома. Определение частоты рецессивных летальных мутаций при использовании линии 5 производится так же, как и с помощью линии Мёллер-5, при этом во время скрещивания особей F_1 визуально

выявляются и отбираются для проверки мутации yellow, white, vestigial, ebony. Все четыре мутантных гена хорошо изучены, интенсивно используются в исследованиях, имеют четкую классификацию и точную локализацию. Линия S характеризуется хорошей жизнеспособностью.

Доминантные летальные мутации определяли по стандартной методике как отношение числа неразвившихся яиц к числу отложенных.

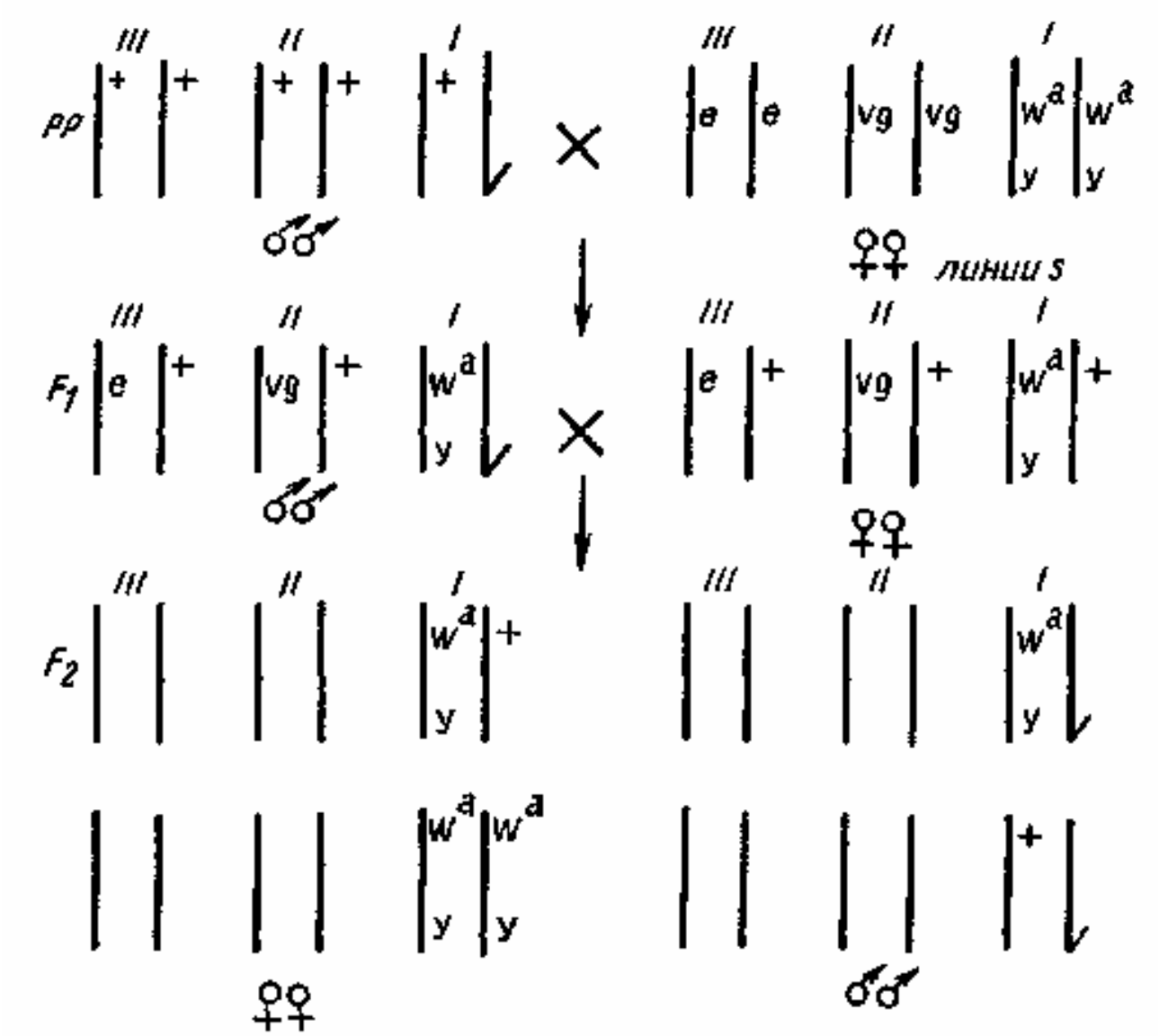


Рис. 7.1. Определение частоты видимых и рецессивных летальных мутаций в геноме дрозофилы с помощью тестерной линии S

Статистическую обработку данных проводили обычными методами. Для анализа частоты мутаций из каждой популяции брали выборки по 200-250 самцов.

При исследовании частоты РЛМ в Х-хромосоме нами выявлялись только те мутации, которые возникли непосредственно от облучения анализируемых особей, так как для опыта берутся самцы, свободные от РЛМ. Поскольку перед анализом облучались не взрослые особи, а только личинки, все половые клетки которых находятся на стадии сперматогониев, в каждом анализе нами определялась индукция облучением РЛМ в сперматогониях дрозофилы. Так как все

РЛМ, выявляемые в сперматогониях, являются точковыми, нами исследовалось влияние меланина на индукцию облучением точковых мутаций.

В популяциях МО частоты РЛМ почти во всех анализируемых поколениях (в 13 случаях из 16) ниже, чем в популяциях О (рис. 7.2 и 7.3). По критерию знаков достоверность защитного влияния меланина на индукцию облучением точковых мутаций в нашем опыте P = 0,05. Аналогично в популяциях М в 12 случаях из 14 частоты РЛМ ниже, чем в контрольных популяциях, что с достоверностью P=0,05 свидетельствует о снижении с помощью меланина спонтанных РЛМ в популяциях дрозофилы. Фактические данные по изучению РЛМ в популяциях разных типов приведены в табл. 7.1-7.3, из которых вид но, что антимутагенное действие меланина в облучаемых и необлучаемых популяциях дрозофилы по критерию Стьюдента также достоверно.

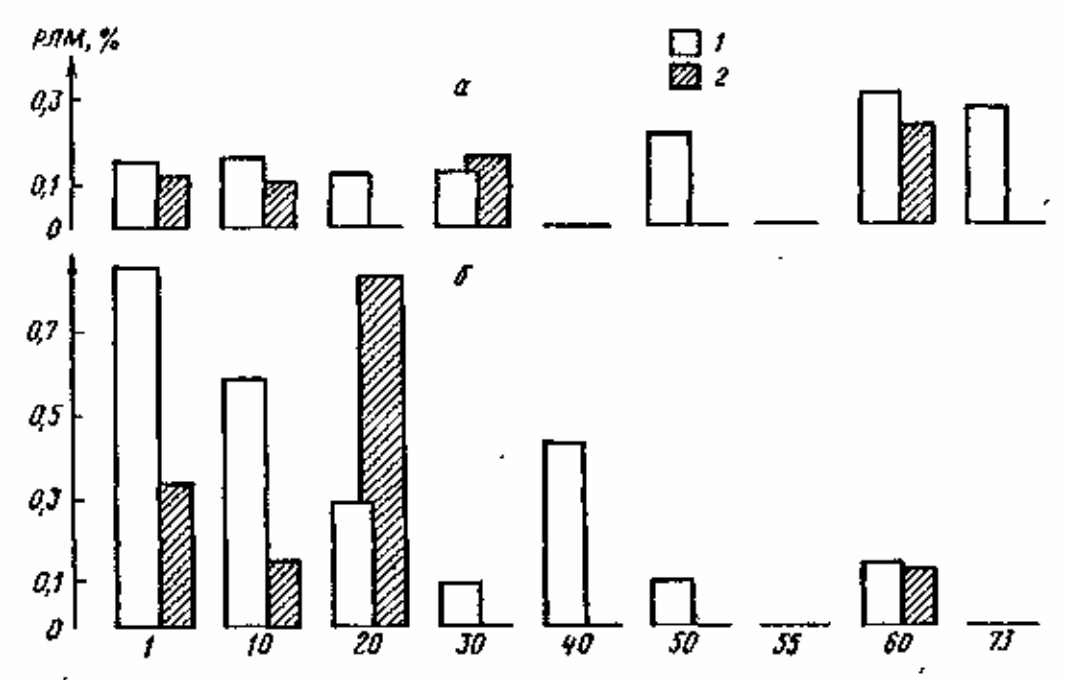


Рис. 7.2. Частота рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций в облучаемых (б) и необлучаемых (а) популяциях дрозофилы I группы, содержащихся на нормальной питательной среде (1) и среде с меланином (2)

Хотя использованный метод определения РЛМ не дает возможности проследить динамику накопления мутационного груза в популяциях, однако из полученных данных можно сделать вывод о постепенном снижении в ходе мониторинга частот РЛМ, возникающих после облучения особей из облучаемых популяций обеих повторностей, что может свидетельствовать о постепенном нарастании радиорезистентности этих популяций.

Постепенное снижение уровня РЛМ обусловлено, с одной стороны, отбором, направленным против особей, несущих РЛМ (при этом возможен отбор и против гетерозигот, так как они могут обладать сниженной жизнеспособностью), а с другой – усиленным размножением более радиорезистентных особей, что и обеспечивает адаптацию популяций к облучению.

Онтогенетическая и генотипическая адаптация организма позволяет особи выжить и оставить потомство в экстремальных условиях, в которых неадаптированные особи гибнут. Вновь возникающие мутации могут сохраняться в цепи поколений лишь в том случае, когда несущие их особи способны конкурировать с представителями исходной генетической линии. Сохранение летальных мутаций зависит от способности к спариванию гетерозиготных самцов и плодовитости гетерозиготных самок, поэтому элиминация леталей определяется главным образом конкурентной способностью самцов, несущих летальные мутации, и жизнеспособностью гетерозигот.

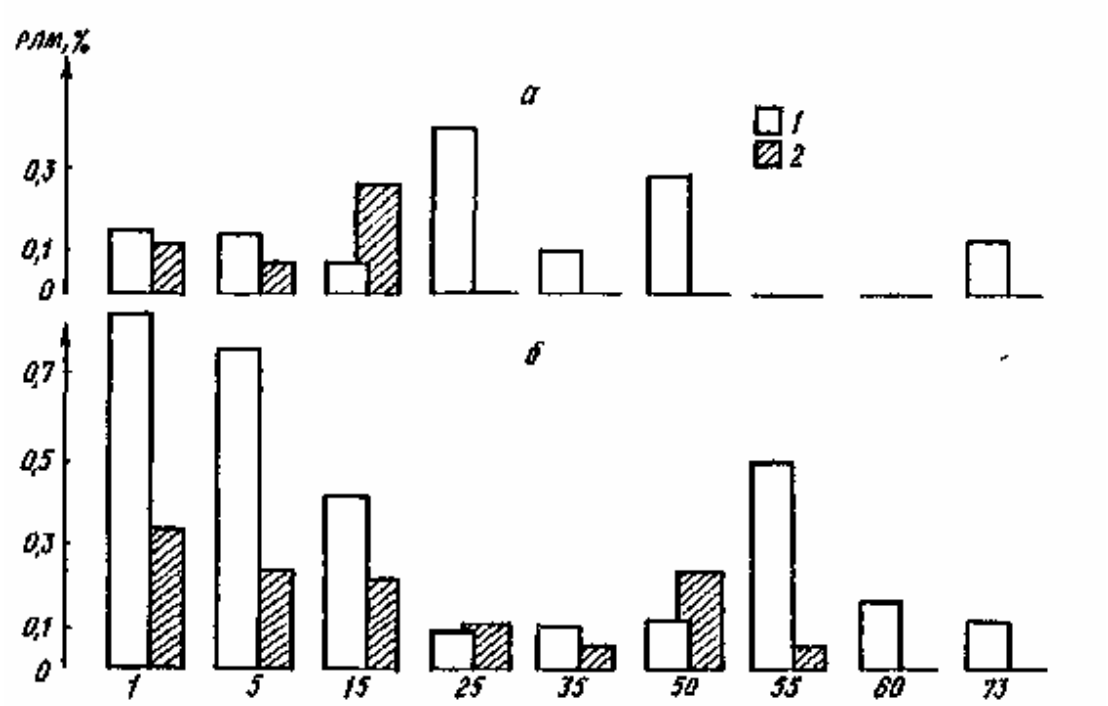


Рис. 7.3. Частота рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций в облучаемых (б) и необлучаемых (а) популяциях дрозофилы II группы, содержащихся на нормальной питательной среде (1) и среде с меланином (2)

В работе [339] показано, что мутации, обусловливающие тяжелые повреждения, подвергаются быстрой элиминации из популяций. Тесты на аллелизм летальных мутаций показали, что вновь индуцированные летали в гетерозиготном состоянии отрицательно влияли на жизнеспособность особей.

Помимо элиминации РЛМ, снижение уровня РЛМ при продолжающемся облучении популяций можно объяснить возникновением генетической адаптации популяций к облучению.

Таблица 7.1. **Частота РЛМ в экспериментальных популяциях дрозофилы I группы**

Параметр РЛМ	Поколение							
	1	10	20	30	40	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число особей	649	1215	811	801	1414	486	552	5928
Число мутаций	1	2	1	1	0	1	0	6
РЛМ, %	0,15 ± 0,15	0,16 ± 0,11	0,12 ± 0,12	0,13 ± 0,13	0	0,21 ± 0,21	0	0,10 ± 0,04
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число особей	867	940	816	645	2692	1011	1412	8383
Число мутаций	1	1	0	1	0	0	0	3
РЛМ, %	0,11 ± 0,11	0,10 ± 0,10	0	0,16 ± 0,16	0	0	0	0,04 ± 0,02
Облучаемая популяция								
Число особей	768	1200	1039	917	2383	1051	1556	8914
Число мутаций	6	7	3	1	10	1	0	28
РЛМ, %	0,85 ± 0,33	0,58 ± 0,22	0,29 ± 0,17	0,10 ± 0,09	0,42 ± 0,10	0,10 ± 0,10	0	0,31 ± 0,06
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число особей	993	1350	1210	1030	1910	713	1721	8927
Число мутаций	3	2	10	0	0	0	0	15
РЛМ, %	0,34 ± 0,18	0,15 ± 0,10	0,83 ± 0,26	0	0	0	0	0,17 ± 0,04

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 1,3$; $t_{К-О} = 2,9$; $t_{О-МО} = 2,5$.

Таблица 7.2. **Частота РЛМ в экспериментальных популяциях дрозофилы II группы**

Параметр РЛМ	Поколение							
	1	5	15	25	35	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число особей	649	1333	1692	1297	1071	708	546	7296
Число мутаций	1	2	1	5	1	2	0	12
РЛМ, %	0,15 ± 0,15	0,14 ± 0,10	0,07 ± 0,06	0,39 ± 0,20	0,10 ± 0,10	0,28 ± 0,20	0	0,17 ± 0,05
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число особей	867	1346	1570	907	548	1095	–	6363
Число мутаций	1	1	4	0	0	0	–	6
РЛМ, %	0,11 ± 0,11	0,07 ± 0,07	0,26 ± 0,13	0	0	0	–	0,09 ± 0,04
Облучаемая популяция								
Число особей	768	1305	1174	1628	1459	1731	1164	9229
Число мутаций	6	9	5	1,5	2	2	6	31,5
РЛМ, %	0,85 ± 0,33	0,77 ± 0,24	0,42 ± 0,19	0,09 ± 0,07	0,10 ± 0,10	0,12 ± 0,08	0,50 ± 0,20	0,34 ± 0,06
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число особей	993	1650	1456	1780	1013	1246	2044	10162
Число мутаций	3	4	3	2	0,5	3	1	16,5
РЛМ, %	0,34 ± 0,18	0,24 ± 0,12	0,22 ± 0,12	0,11 ± 0,08	0,05 ± 0,01	0,24 ± 0,14	0,05 ± 0,05	0,16 ± 0,04

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 1,3$; $t_{К-О} = 2,2$; $t_{О-МО} = 2,5$.

Таблица 7.3. **Частота РЛМ в экспериментальных популяциях дрозофилы I и II групп суммарно за 55 поколений**

Параметр РЛМ	Группы популяций		
	I	II	I + II
Контрольная популяция			
Число особей	5928	7296	13224
Число мутаций	6	12	18
РЛМ, %	0,10 ± 0,04	0,17 ± 0,05	0,14 ± 0,03
Популяция, обрабатываемая меланином			
Число особей	8383	6363	14746
Число мутаций	3	6	9
РЛМ, %	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,02
Облучаемая популяция			
Число особей	8914	9229	18143
Число мутаций	28	31,5	59,5
РЛМ, %	0,31 ± 0,06	0,34 ± 0,06	0,33 ± 0,04
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая			
Число особей	8927	10162	19089
Число мутаций	15	16,5	31,5
РЛМ, %	0,17 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,17 ± 0,03

Примечание. Суммарно по двум группам популяций $t_{К-М} = 2{,}1$; $t_{К-О} = 3{,}7$; $t_{О-МО} = 3{,}0$.

Динамика видимых мутаций

При изучении динамики уровней ВМ установлено, что в популяциях обеих групп наблюдается постепенное снижение частот ВМ до контрольного уровня. Высокая частота ВМ в популяции 0_2 в 25-м поколении обусловлена, очевидно, пучком мутаций (табл. 7.4-7.6 и рис. 7.4).

Таблица 7.4. **Частота ВМ в экспериментальных популяциях дрозофилы I группы**

Параметр ВМ	Поколение							
	1	10	20	30	40	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число особей	1358	2430	1622	1602	2828	972	1104	11916
Число мутаций	2	2	2	3	2	0	1	12
ВМ, %	0,14 ± 0,10	0,08 ± 0,05	0,12 ± 0,08	0,19 ± 0,11	0,07 ± 0,05	0	0,09 ± 0,09	0,10 ± 0,03
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число особей	1734	1880	1636	1290	5384	2022	2824	16770
Число мутаций	2	3	1	6	15	0	0	27
ВМ, %	0,11 ± 0,08	0,16 ± 0,09	0,06 ± 0,06	0,47 ± 0,19	0,28 ± 0,07	0	0	0,16 ± 0,03
Облучаемая популяция								
Число особей	1586	2400	2078	1834	4766	2102	3112	17878
Число мутаций	12	15	5	9	5	2	2	50
ВМ, %	0,75 ± 0,22	0,62 ± 0,16	0,24 ± 0,11	0,49 ± 0,16	0,10 ± 0,05	0,10 ± 0,07	0,06 ± 0,04	0,28 ± 0,04
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число особей	1986	2700	2420	2060	3820	1426	3442	17854
Число мутаций	6	13	6	7	4	1	2	39
ВМ, %	0,30 ± 0,13	0,48 ± 0,13	0,25 ± 0,10	0,34 ± 0,13	0,10 ± 0,05	0,07 ± 0,07	0,05 ± 0,03	0,22 ± 0,04

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-О} = 3{,}6$.

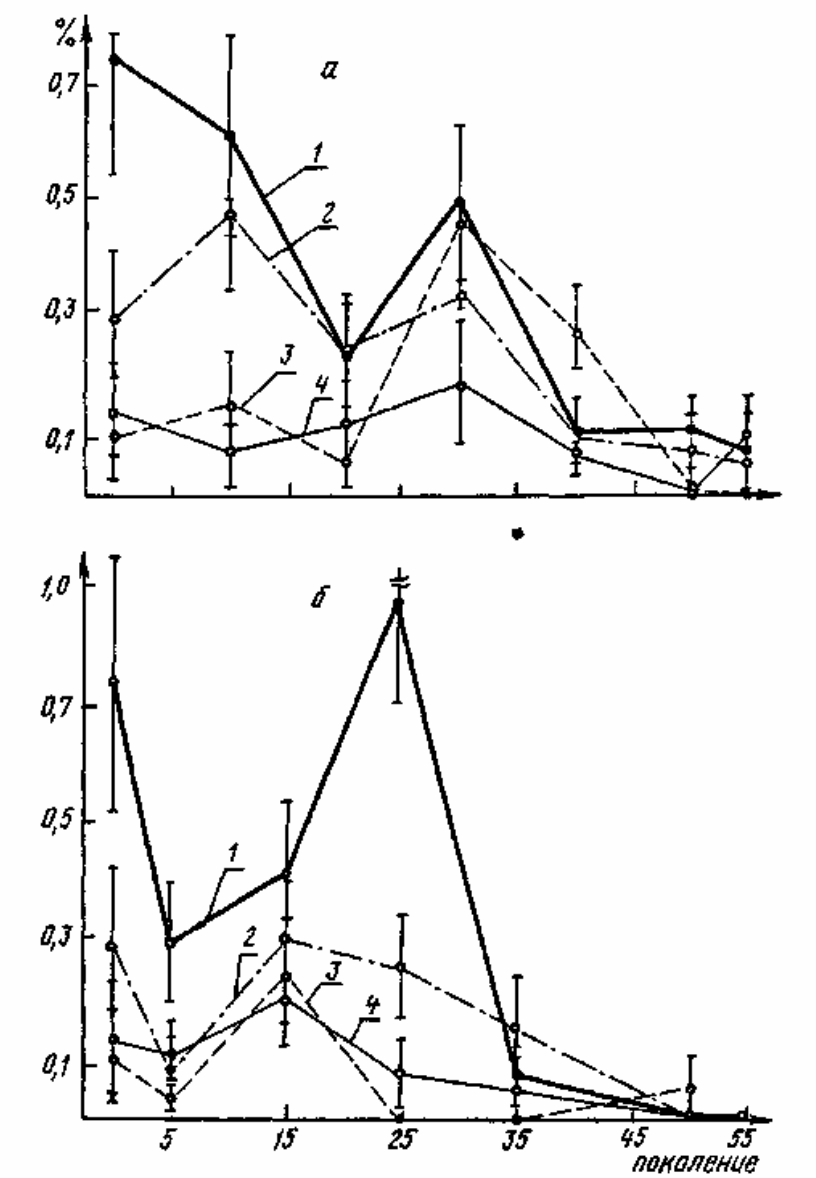


Рис. 7.4. Динамика видимых мутаций I (а) и II (б) групп в популяции дрозофилы: 1 – облучение; 2 – меланин + облучение; 3 – меланин; 4 —контроль

Снижение частоты ВМ может быть вызвано как элиминацией мутаций, так и возникновением адаптации популяций к облучению. В литературе имеются сведения о том, что ВМ могут элиминировать вследствие их отрицательного влияния на приспособленность особей. В частности, мутация white снижает жизнеспособность на стадиях метаморфоза до выхода имаго, а также уменьшает плодовитость, хотя эффект селективного скрещивания в случае мутации white относительно мал [340]. Показано, что биохимические мутации также не являются нейтральными с точки зрения действия отбора [341].

Возникновение адаптации популяций к индукции облучением точковых (биохимических) мутаций показано в работе [342].

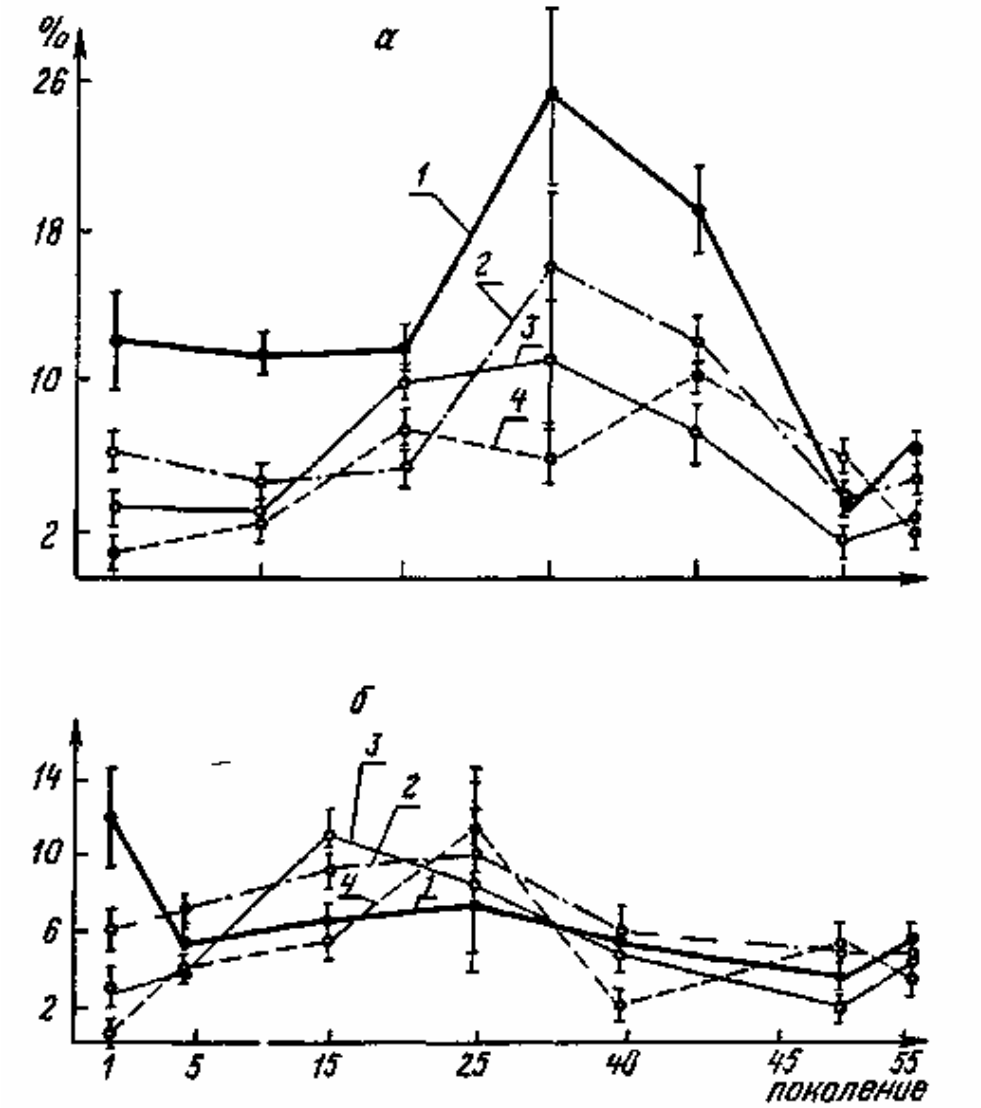


Рис. 7.5. Динамика ДЛМ I (в) и II (б) групп в популяции дрозофилы: 1 – облучение; 2 – меланин + облучение; 3 – контроль; 4 – меланин

Полученные нами данные позволяют сделать вывод также и о снижении частоты ВМ в облучаемых популяциях под влиянием меланина. Так, в популяциях МО в среднем за 55 поколений частота ВМ составила 0,19±0,02%, а в облучаемых популяциях – 0,31 ±0,03% (t = 3,3). Снижения же спонтанного уровня ВМ под влиянием меланина не наблюдалось.

Как отмечалось, литературных данных по модификации мутационного процесса в облучаемых популяциях нами не обнаружено, и только в одной работе исследовано влияние модификаторов на популяции, обработанные химическим мутагеном. Влияние некоторых витаминов на мутационный эффект химического мутагена ЭЙ исследовано в популяциях одноклеточной водоросли хлореллы [343].

Таблица 7.5. **Частота ВМ в экспериментальных популяциях дрозофилы II группы**

Параметр ВМ	Поколение							
	1	5	15	25	35	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число особей	1358	2666	3384	2578	2142	1416	1092	14636
Число мутаций	2	3	7	2	1	0	0	15
ВМ, %	0,14 ± 0,10	0,11 ± 0,06	0,21 ± 0,08	0,08 ± 0,06	0,05 ± 0,05	0	0	0,10 ± 0,02
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число особей	1734	2692	3140	1812	1156	2190	–	12724
Число мутаций	2	1	8	0	0	1	–	12
ВМ, %	0,11 ± 0,08	0,04 ± 0,03	0,25 ± 0,09	0	0	0,05 ± 0,05	–	0,09 ± 0,03
Облучаемая популяция								
Число особей	1586	2610	2352	3248	2918	3462	2328	18504
Число мутаций	12	8	10	29	2	0	0	61
ВМ, %	0,75 ± 0,22	0,30 ± 0,10	0,42 ± 0,13	0,89 ± 0,16	0,07 ± 0,05	0	0	0,33 ± 0,04
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число особей	1986	3300	2912	3496	2026	2492	4088	20300
Число мутаций	6	3	12	9	3	0	0	33
ВМ, %	0,30 ± 0,13	0,09 ± 0,05	0,31 ± 0,10	0,26 ± 0,09	0,15 ± 0,09	0	0	0,16 ± 0,03

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-О} = 5{,}1$; $t_{О-МО} = 3{,}4$.

Установлено, что пиридоксин и никотиновая кислота задерживают появление мутагенного эффекта ЭЙ в течение нескольких поколений, причем пиридоксин усиливает его мутагенное действие. Тиамин и цианкобаламин снижают частоту мутаций, индуцированных химическим мутагеном. При этом наблюдается „срезание" максимума мутаций под действием тиамина и цианкобаламина, аналогичное полученному нами при действии меланина на частоту ВМ, индуцированных облучением (см. рис. 7.4). Сложное взаимодействие модификаторов и ЭЙ (например, обнаружение „сверхзадержанного мутагенеза", „срезание" максимума мутаций и т. д.) еще раз показало, что исследования действия антимутагенов на популяционном уровне не только необходимы для практических целей, но и позволяют раскрыть новые теоретические закономерности мутационного процесса и его модификации, которые в острых опытах обнаружить невозможно.

Динамика доминантных летальных мутаций

Динамика ДЛМ в ряду поколений показывает четкие различия между двумя облученными популяциями по этому тесту (рис. 7.5). Так, если в популяции 0_1 возросшая после первого облучения частота ДЛМ остается все время выше контрольной (рис. 7.5, а), то в популяции 0_2 она падает уже в 5-м поколении, в среднем приближаясь к контрольному уровню (рис. 7.5, б). При этом динамика ДЛМ в популяциях, питавшихся меланином, а также облученных на фоне меланина в обеих группах, практически идентична.

Если мы сравним кривые, отражающие изменение частот ДЛМ в облученных популяциях, с кривыми жизнеспособности особей в этих же популяциях, то увидим, что они являются зеркальным отображением друг друга (рис. 7.6, 7.7).

Частота ДЛМ у дрозофилы по стандартной методике определяется как процент невылупившихся личинок (неразвившихся яиц) по отношению к числу

отложенных яиц. До недавнего времени считалось, что причиной невылупления личинок из яиц являются хромосомные перестройки. Однако было показано [344-346], что в число неразвившихся яиц могут входить 1) неоплодотворенные яйца, 2) яйца, погибшие из-за экологических причин, и 3) яйца, погибшие по генетическим причинам. Из этого следует, что тест ДЛМ можно использовать лишь для вполне определенных целей, ясно сознавая, что он выявляет не только генетические, но и физиологические нарушения. При тестировании мутагенных факторов тест ДЛМ может служить лишь первой ступенью отбора. Например, в работе [346] исследовалось мутагенное действие промстоков у дрозофилы. По тесту ДЛМ эффект был обнаружен, а по тесту РЛМ – нет. Авторы сделали правильный вывод, что доля неразвившихся яиц при воздействии промстоков – результат токсического, а не мутагенного действия.

Комплементарность ряда методов учета мутаций изучена на микроорганизмах, дрозофиле, млекопитающих и клетках человека с помощью кластерного анализа [347].

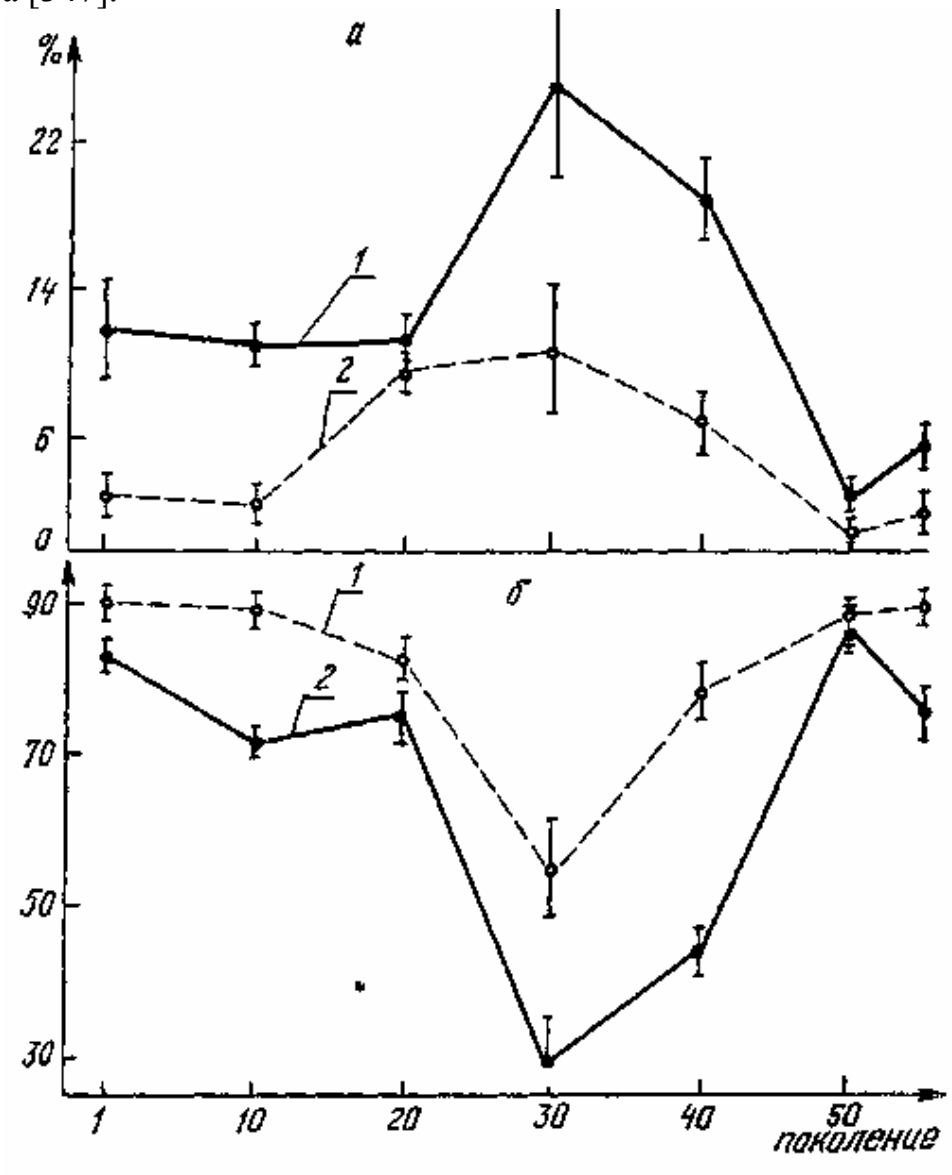


Рис. 7.6. Динамика ДЛМ (а) и динамика жизнеспособности (б) в популяциях дрозофилы К и О: 1 – облучение, 2 – контроль

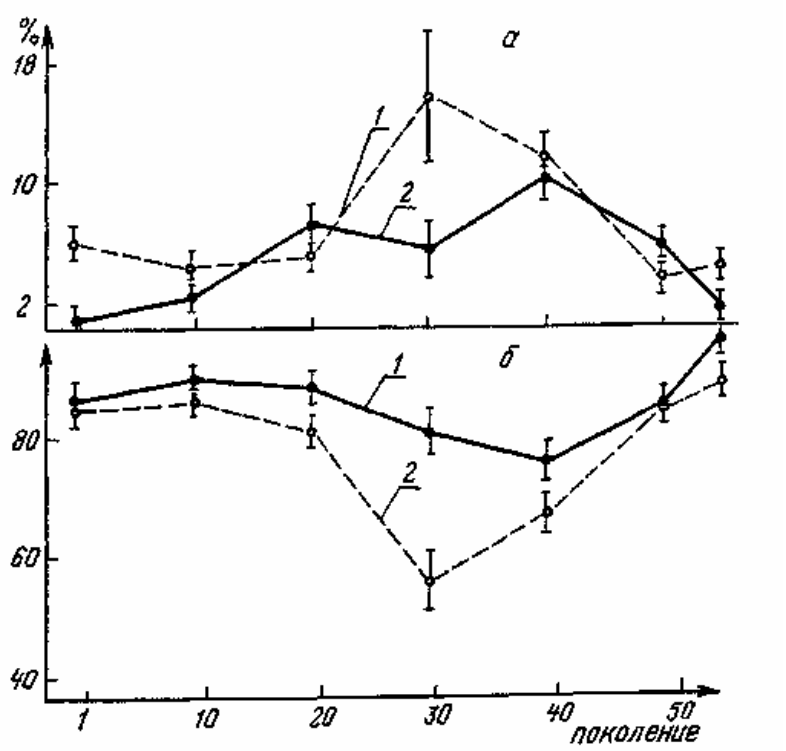


Рис. 7.7. Динамика ДЛМ (а) и динамика жизнеспособности (б) в популяциях М и МО: 1 – меланин; 2 – меланин + облучение

Из восьми проанализированных тестов, используемых для оценки мутагенной активности, семь оказались хорошо скоррелированными. И только метод ДЛМ у дрозофилы не вошел в общий кластер методов, так как данные, выявляемые этим методом, не коррелируют с данными других тестов.

Однако многие исследователи находятся под гипнозом самого термина „доминантные летальные мутации” и продолжают считать его генетическим тестом. Более того, некоторые даже делают выводы о мутагенной активности химических соединений на основе анализа одного лишь теста ДЛМ [348], считая, что гибель яиц (невылупление из них личинок) у дрозофилы обусловлена только генетическими причинами, однако она не всегда зависит от летальных мутаций. Например, исследования влияния мутагена ЭИ показали, что он снижает половую активность самцов дрозофилы и приводит к зависимому от дозы увеличению доли неоплодотворенных яиц [349]. Это значит, что, по крайней мере, часть ДЛМ, вызываемых у дрозофилы ЭИ, являются результатом гибели неоплодотворенных яиц.

При облучении дрозофилы обнаружены морфологически дефектные яйца, из которых личинки не вылупляются [350]. В работе [351] показано, что ДЛМ, возникающие у дрозофилы при изменении направления вектора гравитации, обусловлены нарушением метаболических процессов в клетках яиц. Аналогичный вывод сделан и в работе [352] при изучении радиочувствительности ооцитов дрозофилы: ДЛМ в незрелых ооцитах -следствие поражения ионизирующей радиацией цитоплазматических мишеней. Более того, при использовании теста ДЛМ нельзя быть уверенным, что мы имеем дело действительно с мутациями даже у мышей, у которых можно подсчитать пред- и постимпланта-

ционную гибель яиц, что с большей вероятностью, чем у дрозофилы, позволяет судить о частоте генетических событий.

Таблица 7.6. **Частота ВМ в экспериментальных популяциях дрозофилы суммарно по двум группам популяций за 55 поколений**

Параметр ВМ	Группы популяций		
	I	II	I + II
Контрольная популяция			
Число особей	11 916	14 636	26 552
Число мутаций	12	15	27
ВМ, %	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02
Популяция, обрабатываемая меланином			
Число особей	16 770	12 724	29 494
Число мутаций	27	12	39
ВМ, %	0,16 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,13 ± 0,02
Облучаемая популяция			
Число особей	17 878	18 504	36 382
Число мутаций	50	61	111
ВМ, %	0,28 ± 0,04	0,33 ± 0,04	0,31 ± 0,03
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая			
Число особей	17 854	20 300	38 154
Число мутаций	39	33	72
ВМ, %	0,22 ± 0,04	0,16 ± 0,03	0,19 ± 0,02

Примечание Суммарно по двум группам популяций $t_{О-К} = 5{,}8$; $t_{О-МО} = 3{,}3$.

Японскими исследователями обнаружено отсутствие корреляции между эмбриональной гибелью и индукцией хромосомных перестроек. Например, изопропиленметансульфонат вызывает у мышей высокую постимплантационную смертность, но при этом частота яиц с аберрациями хромосом, регистрируемыми в первом делении дробления, оказывается низкой [353]. Аналогичные данные получены и в работе [354] при испытании трех химических мутагенов разной природы.

Мутаген азотнокислый уранил, наоборот, вызывает значительный выход хромосомных перестроек в клетках костного мозга мышей, но не индуцирует ДЛМ ни на одной стадии сперматогенеза [355].

Не обнаружено прямых корреляций между эмбриональной гибелью половых клеток и наблюдаемой частотой хромосомных нарушений и в работе [356].

Анализ ДЛМ, вызываемых у мышей бисульфоном, не выявил увеличения числа аберраций хромосом [357]. Оказалось, что разовая инъекция этого препарата приводит к стерилизации животных и вызывает долгоживущие морфологические повреждения спермы. Авторы работ [358, 359] пришли к выводу, что гибель яиц обусловлена как свойствами половых клеток мышей, так и некоторыми физиологическими особенностями самок. Аналогичное заключение сде-

лано и в работе [360]: эффекты, регистрируемые у мышей при внутрибрюшинном введении растительных масел как ДЛМ, являются результатом не мутаций, а непосредственного взаимодействия масла с полостью матки, вызывающего отслоение оболочки.

Таким образом, те нарушения, которые выявляются при использовании теста ДЛМ у дрозофилы и мышей, могут иметь как генетическую, так и физиологическую природу.

Следует отметить, что и жизнеспособность особей в большой мере обусловлена генетическими причинами, т. е. эти два теста (жизнеспособность и ДЛМ), хотя и попадают по существующей классификации один в элементы приспособленности, а второй – мутационного груза, тесно скоррелированы; различие состоит лишь в том, что ДЛМ отражают гибель особей на стадии от яйца до личинки, а жизнеспособность – от яйца до имаго. В обоих случаях эта гибель вызывается как генетическими, так и экологическими причинами. Поэтому рассмотренные причины колебаний жизнеспособности, обусловленных изменениями численности особей в популяциях, очевидно, справедливы и для ДЛМ.

Косвенным свидетельством того, что частота ДЛМ не является чисто генетическим тестом, может служить и тот факт, что динамика этих „мутаций" резко различается в двух облученных популяциях, в то время как динамика истинных мутаций (ВМ) аналогична в обеих облученных популяциях (рис. 7.3, 7.4).

Данные по динамике частоты ДЛМ на протяжении 55 поколений идентичны данным по динамике жизнеспособности (табл. 7.7 и 7.8).

Таблица 7.7. **Частота ДЛМ в экспериментальных популяциях дрозофилы I группы**

Параметр ДЛМ	Поколение							
	1	10	20	30	40	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число яиц	299	1063	835	73	193	603	539	3605
Число личинок	289	1032	752	65	180	596	529	3443
ДЛМ, %	3,0 ± 0,9	2,8 ± 0,5	9,9 ± 1,0	11,0 ± 3,7	7,0 ± 1,8	1,1 ± 0,4	2,1 ± 0,6	4,5 ± 0,3
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число яиц	330	1055	650	177	361	854	659	4086
Число личинок	327	1030	603	167	324	805	648	3904
ДЛМ, %	0,6 ± 0,4	2,3 ± 0,5	7,2 ± 1,0	5,7 ± 1,7	10,2 ± 1,6	5,8 ± 0,8	1,6 ± 0,5	4,5 ± 0,3
Облучаемая популяция								
Число яиц	120	1177	788	72	302	657	588	3704
Число личинок	106	1044	694	54	245	638	555	3336
ДЛМ, %	12,0 ± 2,6	11,2 ± 0,9	11,7 ± 1,1	25,2 ± 5,1	19,0 ± 2,3	3,0 ± 0,7	5,7 ± 1,0	9,9 ± 0,5
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число яиц	280	1435	410	77	315	769	823	4109
Число личинок	263	1373	389	65	278	743	790	3901
ДЛМ, %	6,0 ± 1,0	4,3 ± 0,5	5,1 ± 1,1	15,8 ± 4,2	11,8 ± 1,8	3,4 ± 0,7	4,1 ± 0,7	5,1 ± 0,3

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-О} = 9{,}0$; $t_{О-МО} = 8{,}0$.

Действие облучения на популяции неоднозначно: в популяции 0_1 оно существенно увеличивает уровень ДЛМ, а в популяции 0_2 влияние облучения не выявлено. Частоту индуцированных радиацией доминантных летальных мутаций в популяциях I группы меланин снижает с 9,9 ±0,5 до 5,1 ±0,3 % (t = 8,0), а во II, где частота ДЛМ в облучавшейся популяции не превышает таковую в

контроле, его защитное действие не проявляется. В то же время в популяции II группы меланин снижает частоту спонтанных ДЛМ с 7,0 ±0,04 до 4,3 ±0,3% (t = 4,5).

Таблица 7.8. **Частота ДЛМ в экспериментальных популяциях дрозофилы II группы**

Параметр ДЛМ	Поколение							
	1	5	15	25	35	50	55	1–55
Контрольная популяция								
Число яиц	299	903	648	46	354	835	590	3675
Число личинок	289	870	563	41	335	817	502	3417
ДЛМ, %	3,0 ± 0,9	3,7 ± 0,6	13,1 ± 1,3	8,7 ± 4,9	5,2 ± 1,2	2,1 ± 0,5	4,6 + 0,9	7,0 ± 0,4
Популяция, обрабатываемая меланином								
Число яиц	330	1179	544	94	378	818	698	4041
Число личинок	327	1133	511	82	369	773	674	3869
ДЛМ, %	0,6 ± 0,4	4,0 ± 0,6	5,7 ± 1,0	11,7 ± 3,3	2,1 ± 0,7	5,5 ± 0,8	3,4 ± 0,7	4,3 ± 0,3
Облучаемая популяция								
Число яиц	120	756	826	148	409	781	566	3606
Число личинок	106	718	771	136	388	753	536	3408
ДЛМ, %	12,0 ± 2,6	5,2 ± 0,8	6,7 ± 0,9	7,5 ± 2,2	5,3 ± 1,1	3,5 ± 0,7	5,4 ± 1,0	5,5 ± 0,4
Популяция, обрабатываемая меланином и облучаемая								
Число яиц	280	1356	680	181	453	927	763	4640
Число личинок	263	1260	615	163	425	882	728	4336
ДЛМ, %	6,0 ± 1,0	7,1 ± 0,7	9,4 ± 1,1	10,1 ± 2,2	6,1 ± 1,2	5,0 ± 0,7	4,7 ± 0,8	6,6 ± 0,4

Примечание. С 1-го по 55-е поколение $t_{К-М} = 4,5$; $t_{О-МО} = 1,5$.

Таким образом, анализируя динамику мутационного груза, можно сделать следующие выводы.

1. В облучаемых популяциях вслед за резким повышением частот мутаций наступает их постепенное снижение. Так как анализы проводились через 5 поколений, то в период с 1-го по 5-е поколение мог происходить не выявленный нами процесс нарастания частоты ВМ. Снижение уровней РЛМ и ВМ в условиях продолжающегося облучения может свидетельствовать о наступлении генетической адаптации облучаемых популяций к мутагенному действию ионизирующей радиации [361, 362].

2. Меланин благоприятно воздействует на мутационный процесс в популяциях. Так, под влиянием меланина снижается выход всех исследованных типов мутаций, индуцированных рентгеновским излучением, а также спонтанная частота РЛМ.

Таким образом, на примере меланина впервые показана принципиальная возможность уменьшения мутационного груза в облучаемых популяциях при помощи химических антимутагенов. Особенно важно снижение с помощью меланина индукции облучением точковых мутаций в сперматогониальных клетках. Эти результаты имеют большое теоретическое и практическое значение.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ К МУТАГЕННЫМ ФАКТОРАМ

Сравнение радиочувствительности популяций разных типов

Данные о повышении плодовитости облучаемых популяций дрозофилы и снижении частоты РЛМ и ВМ примерно к 25-30-му поколениям после начала облучения позволяют предположить, что облучаемые популяции за данный период времени стали более радиорезистентными, т. е. возникла адаптация этих популяций к действию ионизирующей радиации [363, 364].

Для проверки данного предположения необходимо было оценить радиочувствительность облучавшихся популяций по сравнению с контрольными, а также сравнить радиочувствительность популяций, подвергавшихся воздействию меланина. Для этого в 48-м поколении были взяты выборки взрослых особей из экспериментальных популяций всех четырех типов из обеих групп (I и II) и однократно облучены в дозе 0,6 Кл/кг. Изучены элементы приспособленности (плодовитость, жизнеспособность потомков) и мутационного груза (частота ДЛМ и РЛМ в выборках после дополнительного облучения (табл. 8.1 и 8.2)). После дополнительного облучения плодовитость особей из ранее облучавшихся популяций оказалась на 50 % выше, чем из контрольных. По всем остальным тестам облучавшиеся ранее популяции оказались более устойчивыми к дополнительному облучению, чем все другие (рис. 8.1,8.2). Так, если жизнеспособность особей, взятых из популяций К, М и МО, снизилась под действием облучения на 12-17 %, то у дрозофил из популяций О этот показатель не уменьшился вовсе, несмотря на то что выборка взрослых особей из популяций О, подвергшихся дополнительному облучению, уже была облучена на стадии личинки в дозе 0,10 Кл/кг, т. е. особи из этих популяций получили большую дозу, чем все другие. Аналогично частоты ДЛМ и РЛМ в выборках из облучаемых популяций возросли значительно меньше, чем из всех других.

Если сравнивать радиорезистентность популяций О из каждой группы отдельно, то заметна некоторая разница между ними. Так, если плодовитость особей в облучавшейся популяции I группы после облучения в дозе 0,6 Кл/кг составляла 7,5 ± 0,8 яиц на самку в день, то во II группе этот показатель был равен 10 ± 1,4 яиц на самку в день. Еще более существенной оказалась разница между этими двумя популяциями по тесту РЛМ: в первой частота мутаций после дополнительного облучения составила 0,86 ± 0,09 %, а во второй – всего 0,11 ± 0,01 %. Эти данные хорошо согласуются с данными динамики приспособленности и мутационного груза в популяциях O_1 и O_2. Так, при периодическом облучении в дозе 0,25 Кл/кг плодовитость и жизнеспособность особей в

популяции 0_2 была намного выше, а частота ДЛМ и РЛМ ниже, чем в популяции O_1 (см. рис. 6.3, 6.4, 7.2, 7.4), т. е. популяция O_2 оказалась более радиорезистентной, чем популяция O_1.

Обращает на себя внимание факт, что особи из популяций, облучавшихся и получавших с питательной средой меланин, оказались менее радиорезистентными, чем особи из облучавшихся популяций. Вероятно, это объясняется тем, что меланин, снижая на всем протяжении мониторинга повреждающее действие периодического облучения, способствовал выживанию менее устойчивых генотипов. Поэтому в популяциях МО отбор радиорезистентных форм не происходил или был менее эффективным, чем в популяциях О.

При однократном облучении выборок из популяций М плодовитость и жизнеспособность особей снижались в меньшей степени, чем из контрольных (см. табл. 8.1), что можно объяснить защитным действием меланина. Однако частота мутаций в популяциях М и К после облучения различалась незначительно (см. табл. 8.2).

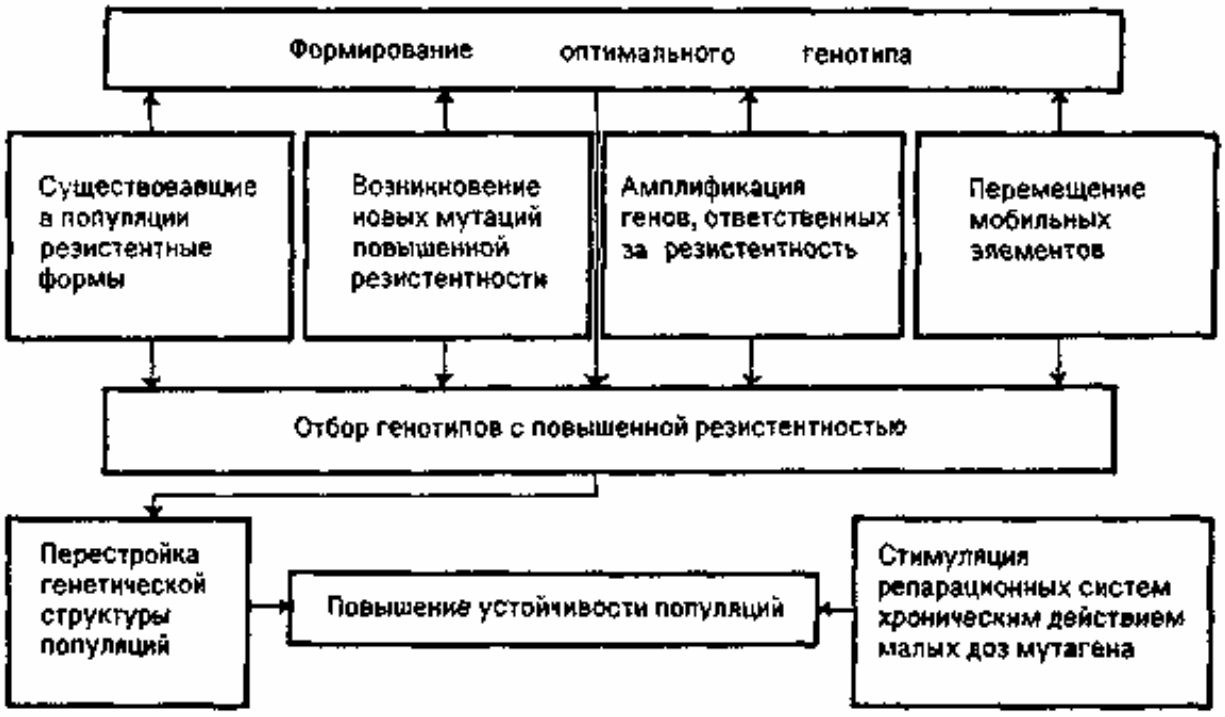


Рис. 8.1. Система механизмов, обеспечивающих повышенную резистентность популяций к повреждающим факторам

Полученные данные позволяют сделать вывод, что при длительном воздействии рентгеновскими лучами в дозе 0,25 Кл/кг популяции адаптируются к облучению, что выражается в повышенной по сравнению с контрольными популяциями устойчивости к токсическому и мутагенному действию радиации. Скармливание меланина препятствует возникновению такой адаптации.

Обращает на себя внимание факт, что в исследованных нами облучаемых популяциях дрозофилы повышенная радиорезистентность обнаружена в 48-м поколении, в то время как в работе [274] высокий уровень РЛМ сохранялся на протяжении 120-140 поколений. Литературные данные по количеству по-

колений, необходимых для формирования адаптивной реакции облучаемых популяций, весьма разнообразны – от 4-6 поколений у дрозофилы и у высших растений [307, 342, 365, 366] до 120-140 поколений у дрозофилы по данным [274]. Этот диапазон обусловлен, очевидно, не столько видовыми особенностями, сколько условиями облучения и содержания популяций (в частности, интенсивностью естественного отбора).

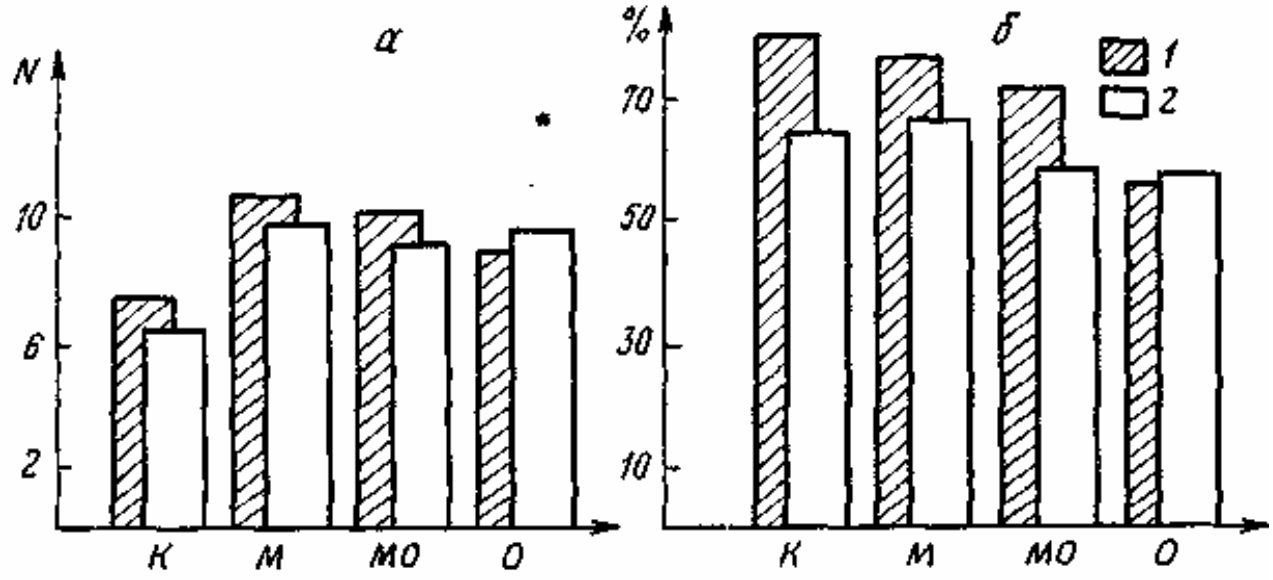


Рис. 8.2. Влияние однократного дополнительного облучения в дозе 0,6 Кл/кг на приспособленность в популяциях дрозофилы (суммарно по I и II группам): а – плодовитость; б – жизнеспособность; 1 – до облучения; 2 – после облучения

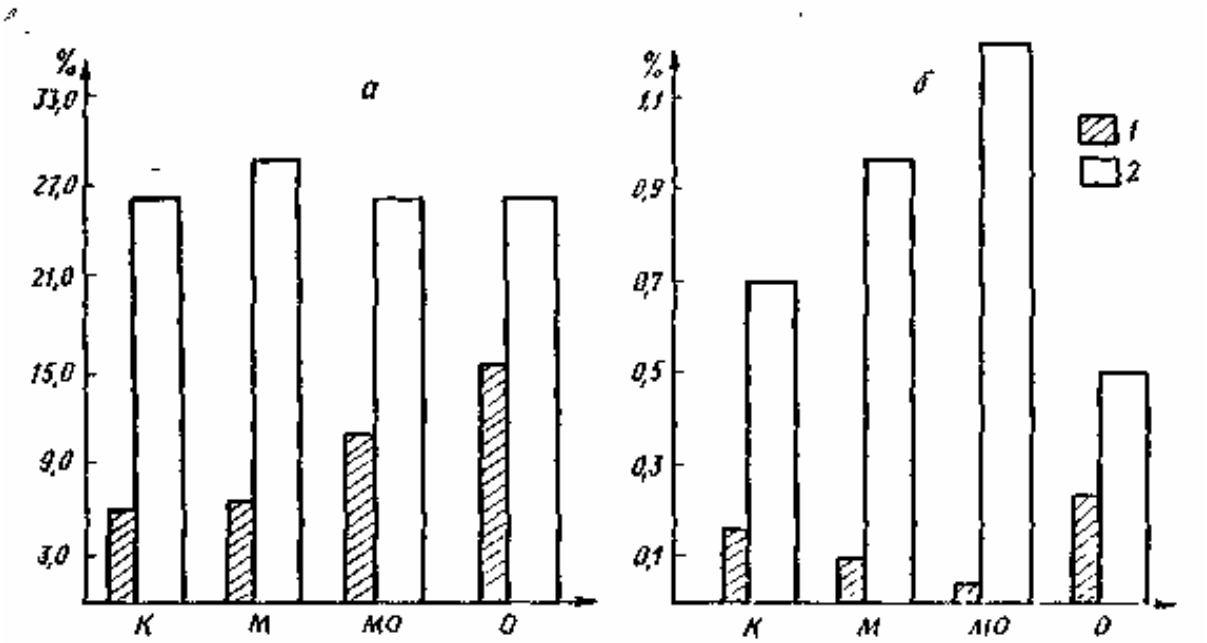


Рис. 8.3. Влияние однократного дополнительного облучения на мутационный процесс в популяциях дрозофилы (суммарно по I и II группам): а – ДЛМ; б – РЛМ; 1 – до облучения; 2 – после облучения

Таблица 8.1. **Влияние однократного дополнительного облучения на приспособленность в экспериментальных популяциях дрозофилы (суммарно по двум группам популяций)**

Популяции	Плодовитость, количество яиц на 1 ♀ в сутки				Жизнеспособность, %			
	до облучения	после облучения	d	t^*	до облучения	после облучения	d	t^*
К	8,3 ± 0,2	6,2 ± 0,6	2,1	3,3	79,6 ± 1,9	62,5 ± 2,3	17,1	9,72
М	8,7 ± 0,1	9,5 ± 0,7	−0,8	8,2	77,9 ± 2,1	65,7 ± 2,0	12,2	9,16
О	10,1 ± 0,2	9,1 ± 0,8	1,0		56,9 ± 1,3	57,4 ± 2,0	−0,5	
МО	10,6 ± 0,1	9,0 ± 0,8	1,6	2,3	71,1 ± 1,1	58,3 ± 1,7	12,8	11,14

* Значение t вычислялось между показателями d в популяциях К, М или МО и показателем d в популяции О; d — разница значений признака до и после облучения.

Таблица 8.2. **Влияние однократного дополнительного облучения на мутационный процесс в экспериментальных популяциях дрозофилы (суммарно по двум группам популяций)**

Популяции	ДЛМ, %				РЛМ, %			
	до облучения	после облучения	d	t^*	до облучения	после облучения	d	t^*
К	5,7 ± 1,6	25,3 ± 2,6	−19,6	2,6	0,09 ± 0,07	0,69 ± 0,16	−0,60	1,5
М	6,2 ± 1,2	28,2 ± 2,3	−22,0	4,0	0,08 ± 0,06	0,94 ± 0,23	−0,86	2,2
О	15,0 ± 2,0	26,4 ± 2,2	−11,4		0,21 ± 0,09	0,50 ± 0,16	−0,29	
МО	10,7 ± 1,8	25,9 ± 1,8	−15,2	1,7	0,03 ± 0,02	1,19 ± 0,27	−1,16	2,9

* Значение t вычислялось так же, как и в табл. 8.1.

Таблица 8.3. **Влияние ЭМС на приспособленность в экспериментальных популяциях дрозофилы (суммарные данные двух групп популяций)**

Популяции	Плодовитость, количество яиц на 1 ♀ в сутки				Жизнеспособность, %			
	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	d	t^*	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	d	t^*
К	11,0 ± 0,1	17,5 ± 2,6	−6,5	4,0	79,6 ± 0,5	24,8 ± 0,9	54,8	14,4
М	12,3 ± 0,1	12,7 ± 3,5	−0,4	15,0	82,3 ± 0,4	6,0 ± 0,9	76,3	23,4
О	12,5 ± 0,2	17,4 ± 2,6	−4,9		74,6 ± 0,5	42,8 ± 1,1	31,8	
МО	13,0 ± 0,2	20,8 ± 2,8	−7,8	6,5	78,4 ± 0,4	34,1 ± 1,3	44,3	7,4

* Значение t вычислялось так же, как и в табл. 8.1.

Таблица 8.4. **Влияние ЭМС на мутационный процесс в экспериментальных популяциях дрозофилы (суммарно по двум группам популяций)**

Популяции	ДЛМ, %				РЛМ, %			
	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	d	t^*	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	d	t^*
К	5,8 ± 0,3	49,8 ± 1,1	−44,0	15,5	0,14 ± 0,03	11,8 ± 1,5	−11,7	4,3
М	4,4 ± 0,2	83,3 ± 1,4	−78,9	31,5	0,06 ± 0,02	—	—	—
О	7,7 ± 0,3	29,6 ± 1,1	−21,9		0,33 ± 0,04	4,2 ± 1,1	−3,9	
МО	5,9 ± 0,3	43,6 ± 1,3	−37,7	9,8	0,17 ± 0,03	12,5 ± 2,2	−12,3	4,9

* Значение t вычислялось так же, как и в табл. 8.1.

Методика нашей работы отличается от методики в работе [274] и более сходна с методикой облучения и содержания популяций, использованной Маркусом [367], показавшим повышенную радиорезистентность облучаемых популяций дрозофилы после 13 поколений облучения: 1) в работе [274] исследовались популяции с перекрывающимися поколениями (особи с низкой жизнеспособностью могут оставить потомство вскоре после вылупления, т. е. естественный отбор в этих условиях менее жесткий), а в работе [367] и нами исследованы популяции с неперекрывающимися поколениями, так что потомство могли оставить лишь особи, дожившие до следующей перекидки, т. е. естественный отбор в этом случае гораздо более интенсивный; 2) в работе [367] и нами применялось периодическое облучение (у Маркуса взрослые особи получали по 500 или 1000 Р один раз в поколение, у нас по 1000 Р за два раза в поколение: 600 Р взрослым и 400 Р личинкам, а в работе [274] использовано хроническое облучение малыми дозами (0,9 Р/ч или 5,1 Р/ч постоянно)).

Отмечено, что при хроническом облучении с постоянной мощностью дозы устанавливается равновесие между давлением мутаций и действием отбора. В результате уровень мутаций в популяции стабилизируется [313]. Однако такое равновесие наблюдается не всегда. В работах, выполненных на высших растениях, показана адаптация облучаемых популяций к 4-му поколению [365, 366], Этапы накопления или стабилизации мутационного груза при этом не выявляются, а наблюдается лишь снижение частоты мутаций от M_1 до M_4. Адаптация хронически облучаемых популяций растений после 5-7 поколений облучения показана в работе [342], в которой отмечено, что отбор радиорезистентных форм идет тем интенсивнее, чем выше мощность дозы хронического облучения, т. е. чем интенсивнее воздействие селектирующего фактора [368].

В ряде работ исследовались хронически облучаемые популяции полевок и лесных мышей. Анализировалась частота хромосомных перестроек в семенниках и костном мозге животных из популяций, обитающих в двух районах с повышенным уровнем радиации разной интенсивности и в контрольном районе. Повышенная радиорезистентность облучаемых популяций была обнаружена в 25-30-м поколениях [368].

Таким образом, можно сделать вывод, что в природных популяциях, а также и в экспериментальных при жестком естественном отборе и при интенсивном воздействии селектирующего агента адаптация облучаемых популяций происходит довольно быстро. В лаборатории можно создать такие условия облучения и действия естественного отбора, при которых будет наблюдаться длительное равновесие между давлением мутаций и отбором. При этом длительность периода формирования адаптации популяций зависит от условий эксперимента.

Сравнение чувствительности популяций разных типов к химическому мутагену ЭМС

Повторная проверка резистентности облучавшихся популяций была проведена в 66-м поколении мониторинга от начала облучения. Интересно было выяснить, является ли повышенная резистентность облучавшихся популяций специфической или нет. В качестве проверочного фактора было решено испытать химический мутаген ЭМС.

Выборки взрослых особей из всех популяций обрабатывались химическим мутагеном ЭМС в концентрации 0,01 М. Мутаген скармливали взрослым особям с 1%-ным раствором сахарозы на бумажных фильтрах в течение 17 ч. Исследовались элементы приспособленности (плодовитость, жизнеспособность) и мутационного груза (ДЛМ и РЛМ). В результате исследований были обнаружены резкие различия в чувствительности популяций к химическому мутагену по всем тестам, кроме плодовитости (табл. 8.3, 8,4 и рис. 8.4). Так, жизнеспособность облучавшихся популяций после обработки ЭМС оказалась почти в 2 раза выше, а частота ДЛМ и РЛМ почти в 2 раза ниже, чем в контрольных.

Полученные данные подтвердили факт возникновения повышенной резистентности популяций при их длительном облучении, а также показали, что эта резистентность является неспецифической, т. е. облучавшиеся популяции стали более устойчивыми к воздействию факторов не только физической, но и химической природы.

Популяции МО оказались более чувствительными, чем популяции О, к воздействию ЭМС. Это подтверждает вывод о том, что меланин препятствует адаптации популяций.

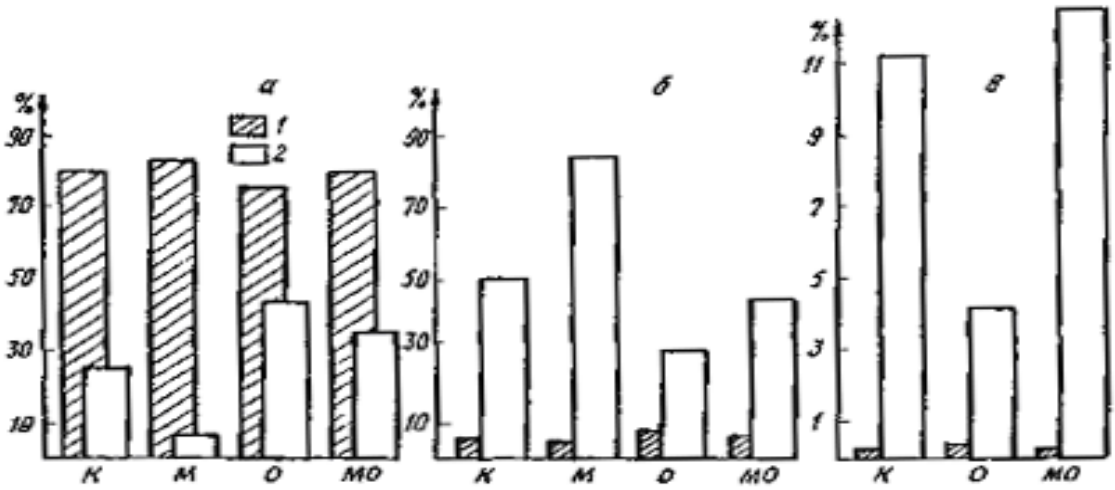


Рис. 8.4. Влияние ЭМС на приспособленность и мутационный процесс в популяциях дрозофилы: а – жизнеспособность; б – ДЛМ; в – РЛМ; 1 – до воздействия; 2 – после воздействия

Если по чувствительности к дополнительному облучению популяции МО занимали промежуточное положение между облучавшимися и контрольными популяциями (см. табл. 8.1, 8.2), то по чувствительности к ЭМС они не отличались от контрольных. Очевидно, меланин хотя и способствовал сохранению менее жизнеспособных генотипов, но в какой-то степени защищал их от однократного дополнительного облучения. Защитить же от химического мутагена меланин, вероятно, не может, судя по его предполагаемому механизму радиозащитного действия, связанному с перехватом энергии облучения. Поэтому чувствительность популяций МО к воздействию мутагена ЭМС была на уровне контрольных популяций. Интересно, что популяции М оказались сверхчувствительны к токсическому и мутагенному действию ЭМС. Плодовитость особей из этих популяций, правда, снизилась незначительно, но зато жизнеспособность составила всего 6,3 %, а уровень ДЛМ достиг 83 %. Частоту РЛМ в выборках из популяций М определить вообще не удалось, так как из-за большого токсического эффекта, выразившегося в гибели дрозофил, обработанных ЭМС, высокой стерильности и низкой жизнеспособности потомства выживших особей не удалось получить достаточное для определения уровня РЛМ количество потомков. Это значит, что антимутаген, снижая вредные воздействия на приспособленность и мутационный процесс в популяциях, тем самым препятствует их адаптации к повреждающим факторам. Очевидно, в благоприятных условиях защиты меланином в популяциях сохраняются и размножаются менее устойчи-

вые и жизнеспособные генотипы и отбор резистентных генотипов не происходит вообще или происходит медленно.

Таким образом, в результате проверочного дополнительного облучения и воздействия химического мутагена выявились различия в радиорезистентности ранее облучавшихся и контрольных популяций. Эти данные подтверждают предположение о том, что при периодическом воздействии рентгеновским излучением в ходе естественного отбора в изученных нами популяциях возникла частичная адаптация популяций к повреждающему действию облучения. Эта адаптация выражается в повышении плодовитости особей, частично компенсирующей сниженную жизнеспособность, а также в постепенном снижении мутабильности экспериментальных популяций, подвергавшихся облучению. Показано также, что выявленная адаптация популяций является неспецифической и обеспечивает устойчивость, как к ионизирующей радиации, так и к химическому мутагену ЭМС [369, 370].

В литературе существуют сведения о неспецифической адаптации популяций к повреждающим факторам. Так, в работе [371] выявлено, что отселектированная по радиорезистентности популяция дрозофилы, в прошлом облучавшаяся рентгеновскими лучами на протяжении 220 поколений, оказалась устойчивой к мутагенному действию химического мутагена ЭМС. Были выделены три мутации, обеспечивающие устойчивость популяции к облучению, и показано, что они ответственны и за устойчивость к химическому мутагену. На этом основании авторы предположили, что мутации влияют на этапы, общие для радиационного и химического мутагенеза [371].

Устойчивые штаммы хлореллы из популяций, подвергавшихся хроническому воздействию ЭИ, резистентны и к летальному действию γ – излучения [372]. Следовательно, облучавшиеся или подвергавшиеся воздействию химического мутагена популяции оказываются устойчивыми к обоим типам воздействий.

Установлено, что популяции пресноводного моллюска прудовика обыкновенного, подвергавшиеся периодическому пересыханию и ежегодному промерзанию, оказались в 3 раза более устойчивыми по сравнению с обычной речной популяцией к летальному действию облучения [365]. В данном случае повышение радиорезистентности явилось следствием увеличения общей неспецифической устойчивости популяций, сформировавшейся под действием жесткого естественного отбора в условиях давления экологических факторов.

Аналогичные данные получены и в работах [373, 374] при исследовании влияния хронического облучения на мутационный процесс в природных популяциях растений. Показано, что неблагоприятные условия произрастания горошка мышиного (бедность почвы органическими и минеральными веществами, ее сухость и токсичность, обусловленная присутствием тяжелых металлов) оказывают не меньшее влияние на радиорезистентность популяции, чем хроническое облучение.

Установлено также, что популяции лесных мышей, проживающих в условиях загрязнения ^{90}Sr, значительно устойчивее, чем контрольные, не только к

дополнительному облучению, но и к физической нагрузке (принудительное плавание), и к неблагоприятным экологическим факторам [375].

На дрозофиле показано, что адаптация по теплоустойчивости сопровождается адаптацией и по радиоустойчивости [376]. А в работе [377] отмечается, что повышенная радиоустойчивость мышей коррелирует с их устойчивостью к гипоксии, холоду, повышенной температуре, длительным физическим нагрузкам, канцерогенам, стрихнину и чумному токсину. В частности, полевки из Заполярья более радиорезистентны по тесту хромосомных аберраций в селезенке, костном мозге и роговице глаза по сравнению с полевками из Подмосковья.

Очевидно, что формирование неспецифической резистентности популяций – это общая закономерность, проявляющаяся при длительных воздействиях самых разнообразных экологических и антропогенных факторов. Это явление необходимо учитывать при оценке генетических эффектов загрязнения окружающей среды. Обычно исследователи ориентируются в основном на прямую оценку уровня мутаций в природных популяциях, что может привести к занижению результатов определения мутагенного потенциала загрязнителей. Например, Леонард [76] считает некорректным использование „метода лимфоцитов” для мониторинга популяций человека, длительно контактирующих с мутагенами, так как популяции лимфоцитов состоят из клеток с разной чувствительностью, причем менее резистентные клетки быстрее элиминируются при хронических воздействиях мутагенных факторов, что приводит к повышению устойчивости популяции лимфоцитов и занижению результатов мониторинга. Кроме того, время жизни лимфоцитов короткое, поэтому значительная часть аберраций элиминируется с погибшими клетками.

Аналогичное предостережение от возможного подхода к созданию критериев качества воды на основе возрастающей устойчивости водных организмов в условиях загрязнения содержится и в работе [378].

Накопленный огромный материал о быстрых и точных генетических изменениях под действием факторов внешней среды позволяет рассматривать эти изменения как индикаторы адаптивного ответа популяций и использовать популяционные сдвиги как критерии загрязнения среды [379].

Механизмы адаптации популяций

Одним из возможных путей формирования адаптации популяций к хроническому воздействию повреждающих факторов является отбор более резистентных генотипов. Известно, что популяции полиморфны по генам, контролирующим радиочувствительность. И если в обычных условиях особи, несущие гены повышенной радиоустойчивости, не имеют селективного преимущества, то при хроническом облучении такие генотипы приобретают особую ценность и закрепляются отбором.

Каковы могут быть причины повышенной резистентносги того или иного генотипа? Устойчивость к облучению может быть обусловлена увеличением

содержания в клетках естественных радиопротекторов. В работе [311] предполагается, что в условиях облучения происходит отбор мутантов, синтезирующих тиолов больше, чем в контрольной популяции. Для проверки этой гипотезы было определено содержание эндогенных тиолов у ряда природных радиорезистентных и чувствительных штаммов хлореллы и обнаружена четкая корреляция между радиочувствительностью и концентрациями внутриклеточных тиолов [311].

При воздействии мутагенов, и в частности облучения, в растениях происходит возрастание количества витаминов. Экспериментально были получены данные о существовании корреляции между эндогенным содержанием аутоантимутагенов и устойчивостью к действию естественных и искусственных мутагенов [270].

Причиной повышенной устойчивости организма может быть более эффективное функционирование систем репарации. Так, при исследовании устойчивости популяций хлореллы к хроническому воздействию химического мутагена ЭИ было установлено, что резистентные штаммы хлореллы характеризуются более высокой эффективностью систем репарации [372], чем чувствительные.

Адаптация популяций может осуществляться не только за счет отбора существовавших в ней резистентных генотипов, но и за счет формирования генотипа, наилучшим образом приспособленного к новым экологическим условиям. В работе [365] при биохимическом изучении соотношения специфических локусов в генофонде популяций пресноводного моллюска было выявлено, что повышенная устойчивость популяций возникает не за счет появления и размножения новых мутантных форм, а за счет формирования оптимального генотипа. В то же время под действием мутагенных факторов в популяциях могут возникать новые мутации повышенной резистентности. Такие мутации будут закрепляться в ходе естественного отбора как имеющие преимущество в новых условиях.

Разновидностью естественного отбора в популяциях является половой отбор. Действие его изучено в основном на популяциях насекомых. Например, вытеснение из популяций дрозофилы мутации vestigial, фенотипически проявляющейся в недоразвитии крыльев, осуществляется не только за счет низкой конкурентной способности мутантных особей по сравнению с нормальными (например, конкуренция за пищу и др.). Помимо этого, существует поведенческая компонента, заключающаяся в ассортативном спаривании в пользу особей „дикого" типа, проявление которого связывается со специфическими феромонами, выделяемыми нормальными особями. При этом крылатые самцы безразличны к фенотипу самок, но крылатые самки предпочитают крылатых самцов [380].

Аналогичным образом вытесняется из популяции и мутация white (белые глаза). Низкая половая активность белоглазых самцов приводит к тому, что при исходном соотношении генов 1:1 полная элиминация мутации white происходит к 7-му поколению [381]. (Кстати, столько же поколений требуется и для вытеснения мутации vestigial [380].) В то же время разные пигментные мутации

по-разному влияют на конкурентную способность их носителей. Так, белый цвет глаз снижает приспособленность особей, а желтый цвет тела (мутация yellow) не влияет на конкурентные взаимоотношения [382].

У бабочек рода Golias самки осуществляют выбор партнера по „летательной активности”. Особи, имеющие генотипы, обусловливающие способность к продолжительному полету, чаще других попадают в число партнеров по скрещиванию. Более того, при повторном скрещивании самки выбирают самцов с „лучшим” генотипом чаще, чем при первом спаривании [383].

Таким образом, половой отбор может благоприятствовать генам, обеспечивающим общее адаптивное преимущество. Материалом для естественного отбора являются также мутации, возникающие при изменении окружающей среды.

В географически изолированных популяциях дрозофилы наблюдаются одновременные изменения сайтспецифичной мутабильности, которые объясняются флуктуациями частот генов-мутаторов. Предполагается, что при глобальных изменениях условий среды, таких как пандемия или введение новых мутагенов, селективная выживаемость устойчивых мутантов создает преимущество для генов-мутаторов, вызывающих мутации соответствующих локусов [384].

Подробное выяснение причин радиоустойчивости популяции дрозофилы, долгое время подвергавшейся облучению, проведено в работах [385, 386]. Вначале было установлено, что повышенная радиорезистентность этой популяции обусловлена устойчивостью стадии 7 ооцитов. Затем с помощью дальнейшей селекции получена еще более радиоустойчивая популяция и изучена генетическая система, ответственная за ее повышенную радиорезистентность. Показано, что радиационно-устойчивая мутация 1, локализованная в Х-хромосоме, контролирует процесс образования ДЛМ и РИМ. Мутация 2, расположенная в аутосоме 2, независимо от мутации 1 снижает вероятность образования ДЛМ и РЛМ и частоту потерь Х-хромосом. Она снижает также вероятность межхромосомных обменов и нерасхождения хромосом. Мутация 3 (аутосома 3) независимо от двух предыдущих контролирует радиорезистентность в отношении ДЛМ, РЛМ и интеробменов с нерасхождениями. Установлено, что мутация 3 связана с одиночным рецессивным геном, локализованным в 3-й хромосоме в положении 49.8.

Дальнейшие исследования радиорезистентности двух изучаемых популяций показали, что она наследуется полудоминантно, а радиочувствительность гибридов между этими популяциями соответствует радиочувствительности родительских популяций [387].

В работе [388] установлено, что адаптивная эволюция на основе рецессивных мутаций невозможна и благоприятная мутация, вызывающая увеличение резистентности популяции, должна быть доминантной или хотя бы полудоминантной.

Огромные преимущества в условиях длительного воздействия повреждающего фактора дает особям амплификация генов, ответственных за устойчивость к этому фактору. Так, после многошаговой селекции с возрастающими

концентрациями боррелидина были получены линии клеток яичника китайского хомячка с резистентностью к боррелидину в 1000 раз большей, чем у родительской линии [389]. В работе показано, что эта устойчивость обусловлена амплификацией гена, кодирующего треонил-тРНК синтетазу, ингибитором которой является боррелидин.

Линия клеток мышиной меланомы, устойчивость которой к адриамицину в 50 раз превосходит исходную, описана в работе [390]. Цитогенетические исследования позволили авторам сделать вывод, что адаптация этой популяции клеток осуществилась за счет амплификации генов, ответственных за проявление резистентности к адриамицину.

В линиях клеток китайского хомячка, отобранных с помощью многоступенчатой селекции по резистентности к винкристину, обнаружена амплификация соответствующего гена, которая сопровождалась как увеличением синтеза белка V19, так и повышением количества полисом мРНК VI9. В результате этих изменений клетки оказались устойчивее в 500-4000 раз по сравнению с исходными [391].

Показано, что 4-8-кратная амплификация гена обеспечивает 20-кратную сверхэкспозицию мРНК гомологичного гена[392]. Сверхрепликация ДНК наблюдалась и при возникновении резистентности клеток китайского хомячка к гипоксии [393]. При этом содержание ДНК превышало 4 С. Обнаружено, что клетки с высокой амплификацией гена происходили из популяции клеток, претерпевших сверхрепликацию ДНК [393]. На клетках джунгарского хомячка, обладающих высокой устойчивостью, показано, что амплифицированная ДНК, как и митохондриальная, реплицируется асинхронно [394]. При этом обнаружено, что количество копий повторяющихся последовательностей ДНК коррелирует с уровнем резистентности клеток и размер амплифицированного сегмента составляет 200-250 тыс. оснований.

В последние годы появляется все больше данных о вкладе в быструю адаптацию популяций к неблагоприятным внешним факторам МГЭ, называемых также транспозонами. Приближение определенных МГЭ к некоторым генам про- и эукариот повышает активность этих генов в десятки раз [395].

Многие МГЭ содержат различные знаки пунктуации и управления считыванием (в частности, промоторы и терминаторы транскрипции). В структуре МГЭ обнаружены также энхансероподобные сайты. Активность всех этих знаков способна изменять (активировать или подавлять) функции соседних генов, причем влияние энхансеров может распространяться на расстояния порядка тысяч нуклеотидов. Таким образом, инсерция МГЭ в отдаленный сайт способна существенно повысить активность соответствующих генов. Отсюда понятно, что перемещения МГЭ могут вызвать быструю адаптацию организмов к меняющимся условиям внешней среды [396-398]. Разработана математическая модель для системы „внешняя среда – ген – МГЭ” [396, 399]. В результате анализа модели на ЭВМ показано, что могут существовать режимы резких изменений внешней среды, когда механизмы мутагенеза не способны обеспечить выживание популяции. Возможность адаптации популяций в таких условиях могут обеспечить мобильные генетические элементы, причем с большой долей

вероятности МГЭ функционируют коррелированно с условиями внешней среды.

Например, в работе [400] было показано, что чувствительность экспериментальных популяций дрозофилы к мутагенному действию облучения ступенчато снижается при ступенчатом повышении уровня облучения (0, 2, 4 и 8 кР на поколение). Выявлено, что адаптация популяций обусловлена возникновением отдельных генетических элементов, которые, по мнению автора, являются транспозонами. При каждом новом повышении уровня облучения ступенчато включаются дополнительные генетические „элементы". Так, при облучении популяций в дозе 2 кР возникло два полудоминантных фактора в I и II хромосомах. При увеличении дозы облучения до 4 кР появился третий (рецессивный) фактор в III хромосоме, а при повышении уровня облучения до 8 кР возник 4-й элемент, тоже рецессивный, в I хромосоме. После прекращения облучения один из факторов устойчивости исчез из популяции. Такие явления могут быть объяснены только транспозициями МГЭ.

Аналогичные „элементы", обладающие селективным преимуществом и возникающие в разных хромосомах дрозофилы при облучении популяций, описаны в работе [401]. При интенсивном давлении отбора в популяциях могут происходить резкие перестройки за счет появления „элементов", имеющих преимущество в гетерозиготах. В работах [402-404] обнаружено, что при ступенчатой температурной обработке особей дрозофилы в чувствительные периоды онтогенеза рисунки перемещения и локализации МГЭ оказываются аналогичными в разных повторностях опыта.

Очевидно, не только ионизирующая радиация, но и любые экстремальные воздействия, в том числе и температурные, способны стимулировать транспозиции МГЭ в генеративных клетках. Перемещения мобильных элементов наследуются, поэтому наследуется и вызываемая ими активация генов, повышающих приспособленность особей.

Особый интерес представляет неслучайность спектров перемещений МГЭ, адекватных внешним воздействиям. Формирование нового генотипа может быть адекватным ответом на стрессовое влияние окружающей среды, которое вызывает активацию мобильных элементов генома, вырабатывающих обратную транскриптазу, а также может нарушать автономность созревания синтезируемой РНК. Обратная транскрипция незаконно сплайсированных РНК может формировать копии ДНК, которые способны встраиваться в геном, обусловливая возникновение новых функций [405].

Один из наиболее ярких примеров направленной реакции популяций на изменения условий внешней среды – появление генотрофов у растений, выращенных при различном содержании азота, калия и фосфора в среде [406]. Возникающие при этом фенотипические различия сохраняются у потомков при содержании их в одинаковых условиях. Оказывается, что причиной таких фенотипических различий является амплификация генов, необратимо изменяющих геном. Другими примерами направленных генетических изменений являются синтез специфических антител в лимфоцитах В и индуцируемое недостатком восстановленного азота появление у синезеленой водоросли способности к

фиксации азота атмосферы, что также сопровождается изменениями генома [406].

Очевидно, существует связь между МГЭ и амплификацией генов. Поскольку МГЭ могут кодировать ревертазу, усиление их транскрипции будет стимулировать амплификацию клеточных генов, что и приведет к изменению дозы генов или к инсерционному мутагенезу [407]. Таким образом, мобильные элементы могут выполнять функцию рецепторов, обеспечивающих связь между изменением параметров внешней среды и величиной изменчивости, и тем самым приводить к быстрой адаптации популяций в экстремальных условиях.

Описанные механизмы адаптации популяций могут быть объяснены перестройкой генетической структуры популяций. Однако возможно и другое объяснение повышенной устойчивости популяций к действию мутагенных факторов – это стимуляция или активация систем репарации хроническим воздействием малых доз мутагена [366].

Система механизмов, повышающих устойчивость популяций к повреждающим факторам, представлена на рис. 8.1, из которого видно, что в каждом конкретном случае их резистентность может обеспечиваться каким-то одним, а может быть, и несколькими путями. Стимуляция репарационных систем малыми дозами мутагена и перестройка генетической структуры популяции – это два принципиально разных механизма повышения резистентности популяций, один из них приводит к физиологической адаптации популяций, а другой – к генетической. Поэтому при выяснении причин устойчивости популяций, прежде всего, необходимо решить вопрос, какой из этих двух механизмов обеспечивает популяции ее устойчивость.

Если резистентность популяции обусловлена стимуляцией систем репарации под действием мутагена, то после прекращения мутагенных воздействий чувствительность популяции должна вернуться к норме.

Для проверки этого предположения из облучавшихся в течение 72 поколений популяций дрозофилы нами выделены субпопуляции O^-, облучение которых прекратили. Через пять поколений после прекращения облучения была исследована чувствительность этих популяций к мутагенному действию ЭМС.

Воздействие ЭМС привело к возникновению такой же частоты доминантных и рецессивных летальных мутаций в популяциях О, как и в популяциях O^- (табл. 8.5). Причем и в тех и в других частоты мутаций после обработки ЭМС были ниже, чем в контрольных. Следовательно, популяции, облучение которых было прекращено за 5 поколений до обработки ЭМС, сохранили свою повышенную резистентность. Это свидетельствует о том, что в результате длительного воздействия излучения в популяциях произошла генетическая перестройка, т. е. мы имеем дело с генетической (или эволюционной) адаптацией популяций.

Таким образом, при длительном воздействии рентгеновским излучением в дозе 0,25 Кл/кг на поколение в популяциях формируется адаптация к токсическому и мутагенному действию облучения. Выявлен неспецифический характер такой адаптации – адаптированные популяции оказались более устойчивыми к

воздействию не только ионизирующей радиации, но и химического мутагена ЭМС.

Таблица 8.5. **Влияние ЭМС на мутационный процесс в экспериментальных популяциях дрозофилы К, О, О⁻ (суммарно по двум группам популяций)**

Популяция	ДЛМ, %				РЛМ, %			
	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	*d*	*t**	до обработки ЭМС	после обработки ЭМС	*d*	*t**
К	5,5	57,4	−51,9		0,1	2,4	−2,3	
О	10,8	43,4	−32,6	8,0	0	1,1	−1,1	1,4
О⁻	10,8	43,9	−33,1	8,0	0	1,2	−1,2	1,2

** Значение t вычислялось между показателями d в популяциях О, О⁻ и показателем d в популяции К.*

Показано, что повышенная резистентность облучавшихся популяций обусловлена не стимуляцией репарационных систем малыми дозами радиации, а перестройкой генетической структуры популяций, т. е. адаптация этих популяций, является генетической.

На примере меланина впервые установлено, что антимутаген, защищая популяции от вредных воздействий, тем самым препятствует адаптации этих популяций к повреждающим факторам, по-видимому, за счет сохранения и размножения менее устойчивых и менее жизнеспособных генотипов.

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ

Влияние факторов среды на генетические эффекты радиации и проблемы защиты наследственности

Радиогенетический эффект зависит от многих факторов внутренней и внешней среды, он может быть как сенсибилизирован (усилен), так и подавлен (защитное действие факторов среды).

Физиологическое состояние клетки оказывает серьезное влияние на степень поражения ее ядра ионизирующими излучениями. Детальный анализ, проведенный на дрозофиле, показал, что разные стадии развития зародышевых клеток резко различаются по генетической радиочувствительности. У млекопитающих мужские половые клетки проходят целый ряд стадий развития. Исходные зародышевые клетки носят название *А*-сперматогоний. Они являются резервом при постоянно идущем сперматогенезе. В ряде делений *А*-сперматогонии переходят в стадию так называемых активных сперматогониев или *В*-сперматогоний. Последние превращаются в сперматоциты, в которых развертываются важнейшие процессы мейоза, приводящие к кроссинговеру, к редукции хромосом и, наконец, к образованию сперматид, несущих гаплоидное число хромосом. Сперматиды преобразуются в спермин, образованием которых заканчивается цикл сперматогенеза. В этих последовательных преобразованиях зародышевых клеток наиболее радиочувствительны сперматогонии типа *В,* в которых уже при действии 5 *р* обнаруживаются нарушения. Доза в несколько десятков рентген обусловливает гибель сперматогонии типа *В,* вызывая этим временную стерильность самцов. Напротив, 4-сперматогонии отличаются исключительной устойчивостью, например у дрозофилы они способны переносить облучение дозой в 10 000 *р.*

В процессах развития сперматоцитов при смене разных стадий мейоза каждая из этих стадий характеризуется специфической радиогенетической чувствительностью. При помощи радиационных методов удается установить длительность в часах как всего сперматогенеза, так и его отдельных частей, вплоть до отдельных фаз мейоза. Это достигается тем, что при малых дозах убиваются сперматогонии типа *В* и затем, прослеживая последовательность разных стадий в таком прерванном и затем вновь начинающемся сперматогенезе, устанавливают длительность каждой стадии. В табл. 12 представлена общая длительность сперматогенеза и длительность всех стадий мейоза.

Таблица 12. Продолжительность стадий сперматогенеза у обезьян

Стадия	Продолжительность стадии, ч
1) сперматогонии:	
A	761,1
B	143,8
2) фазы мейоза в сперматоцитах:	
прелептонема	32,8
лептонема	38,5
зигонема	47,4
пахинема	253,7
диплонема	22,3
диакинез + метафаза	13,2
3) спермиогенеза	369,1
Всего	1682

Имея такой материал, можно изучить радиочувствительность любой стадии мейоза, так как, зная время, проходящее с момента облучения, мы знаем, какая стадия была нами облучена. Проведение такого анализа у обезьяны позволило установить частоту появления хромосомных перестроек для разных фаз мейоза. Сравнительный анализ соответствующих стадий мейоза у мышей показал, что эти стадии у мыши в два раза менее радиочувствительны (табл. 13).

Таблица 13. Сравнительная радиационная цитогенетическая чувствительность зародышевых клеток при разных фазах мейоза у обезьян и мышей. Доза облучения 100 р

Объект	Процент клеток с хромосомными перестройками				
	диплонема	поздняя пахинема	средняя пахинема	зигонема	лептонема
Обезьяна	37,18	20,98	11,56	10,91	5,41
Мышь	13,76	11,56	7,29	4,89	14,84

Из факторов среды, резко меняющих силу действия ионизирующих излучений, первое место занимает так называемый эффект кислорода. Наличие кислорода резко усугубляет поражающий эффект гамма-лучей и рентгеновых лучей. При удалении кислорода радиочувствительность живой клетки падает. Эффективность кислорода является наибольшей при том содержании кислорода, которое характеризует атмосферу (21% кислорода). Дальнейшее увеличение

содержания кислорода не увеличивает эффекта гамма- и рентгеновых лучей. Обычно при облучении клеток в бескислородной среде (в азоте) их радиоустойчивость повышается в два-три раза. Эффект кислорода отличается удивительной универсальностью. Он имеет место при гибели под действием облучения раковых клеток у мышей, при радиационном вызывании хромосомных перестроек в корешках лука, при выживании животных, растений и бактерий, при возникновении мутаций у мышей, дрозофил, ячменя, бактерий и во многих других случаях.

Факт такого универсального действия кислорода при самых разных биологических реакциях на облучение указывает, что присутствие кислорода изменяет первичные химические процессы, вызываемые облучением. Об этом же говорит тот факт, что эффект кислорода обнаружен при облучении сухой ДНК, когда образование свободных радикалов OH' и H" не происходит. Присутствие кислорода при радиогенетическом эффекте изменяет первичные химические процессы, вызываемые облучением непосредственно в хромосоме, это доказывают также факты о различном влиянии кислорода при использовании разных видов радиации. Показано, что по мере повышения линейной потери энергии зависимость генетического эффекта радиации от кислорода понижается. Так, при анализе хроматидных разрывов в пыльце традесканции было показано, что при облучении в бескислородной среде (аноксия) эффект от воздействия гамма-лучей можно снять аноксией на 59 %, от воздействия рентгеновых лучей – па 43 %, от быстрых нейтронов—на 33 % Что же касается эффекта от альфа-частиц, то он при удалении кислорода остается без изменений; (рис. 126).

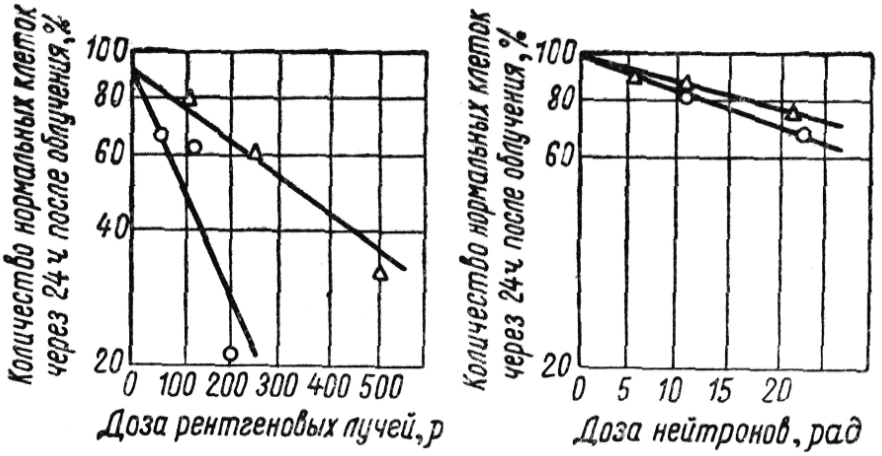


Рис. 126. Влияние рентгеновых лучей и нейтронов на опухолевые (асцитные) клетки мышей при облучении в воздухе и в атмосфере азота (О).

Эффект ионизирующих излучений зависит от влияния других физических факторов среды. Показано, что действие излучений усиливается при низких температурах. Инфракрасное облучение, предшествуя воздействию ионизирующих излучений, усиливает его генетический эффект. Ультрафиолетовое облучение, примененное после рентгеновского, понижает частоту изменений в хромосомах. Многие химические факторы также модифицируют эффект действия ионизирующих излучений на наследственные структуры. Показано, что при облучении семян и пыльцы растений частота радиационных мутаций сильно

зависит от содержания в них воды. Формальдегид, введенный до облучения в спермин дрозофилы, увеличивает число летальных мутаций. Тем же эффектом обладает синильная кислота.

Возможность уменьшить размеры радиогенетического эффекта обработкой ткани или организма в целом химическими или физическими воздействиями подводит нас к проблеме защиты наследственности от действия радиации.

Мы видели, что процессы, ведущие к появлению первичных поражений хромосом, очень сложны. Также сложны вторичные радиационно-химические процессы и их противоречивая зависимость от условий внутриклеточной и внешней среды. Все это создает большие трудности в разработке принципов химической защиты наследственности от действия ионизирующих излучений. Само явление защиты может происходить только в момент первичного поражения хромосом и во время осуществления процессов, ведущих к появлению мутаций, которые могут быть остановлены и даже повернуты в сторону восстановления исходных неизменных структур. После завершения процессов, ведущих к возникновению генных мутаций или хромосомных перестроек, химическая и другая защита теряет свое значение. Завершенные мутации представляют собой стойкие, практически необратимые изменения, природа которых может быть изменена только путем появления новых мутаций.

В настоящее время известно несколько путей, используя которые мы можем в какой-то мере защитить наследственность от действия радиации. Во-первых, обнаружено, что энергия, поглощенная молекулами хромосом, может мигрировать на молекулы введенных в клетку защитных веществ. В результате миграции энергии при данной дозе радиации пораженных молекул в хромосоме становится меньше. Поражение переносится с молекул хромосом на молекулы защитного вещества. Миграция энергии является основным механизмом защиты против прямого действия радиации. Известно, что некоторые защитные вещества, например цистеамин (производное аминокислоты), стрептомицин (антибиотик) и другие, образуют комплексоны с молекулами ДНК. В условиях таких комплексонов энергия, поглощенная молекулой ДНК, мигрирует в молекулу комплексона – защитного вещества и вызывает в ней поражение. Вторым важным механизмом защиты служит удаление из клетки части кислорода (гипоксия). Гипоксия уменьшает поражающий эффект радиации. Этот механизм оказывается связанным с действием таких веществ, введенных в клетку, которые химически связывают кислород, создавая в клетке условия гипоксии. Такое связывание кислорода в живой клетке может быть достигнуто введением гипосульфита и некоторых других веществ. Третьим основным механизмом защиты в живой клетке служат естественные процессы восстановлений, ликвидирующие нанесенные ей поражения. Так, например, на выживаемость бактерий сильно влияет температура, При которой они хранятся после облучения. Наиболее благоприятной температурой для роста бактерий является 37° С. Однако при хранении бактерий после облучения при 37° и при 6° С их выживаемость оказывается меньше, чем при хранении в условиях 18° С. Выживаемость бактерий при облучении увеличивается с добавлением некоторых веществ в среду,

на которой растут бактерии. При облучении простейших показано, что задержка митоза ведет к усилению восстановительных процессов. Наконец, четвертым механизмом защиты хромосомных молекул от поражающего действия радиации является перехват молекулами защитных соединений на себя тех свободных радикалов, которые образуются при радиолизе воды. Большинство органических соединений, реагируя с радикалами OH*, H* (или HO_2), уменьшают этим путем количество свободных радикалов, способных поразить молекулы в хромосомах. Очевидно, что этот механизм защиты используют при косвенном действии излучений.

Разработка вопросов, связанных с химической защитой от действия радиации, имеет очень большое научное и практическое значение. В научном отношении использование химической защиты помогает выяснить основные первичные механизмы лучевого поражения. В практическом отношении разработка совершенных средств химической защиты могла бы во многом расширить использование атомной энергии в медицине, технике, науке и в сельском хозяйстве.

Серосодержащие радиопротекторы

Первая попытка защитить от облучения наследственные структуры половых клеток была сделана в 1953 г. с помощью самого эффективного в то время радиопротектора – цистеамина (МЭА). Было проведено две серии экспериментов с дрозофилой и мышами, в результате которых уменьшение мутагенного действия облучения не было обнаружено [142, 143].

Попытка уменьшить с помощью цистеамина мутагенный эффект облучения у тутового шелкопряда была предпринята в 1955 г. [144]. Наряду с этим исследовался генетический эффект цистеина, защитное действие которого против вызванной облучением гибели было показано в 1949 г. на мышах [145]. Оказалось, что оба препарата не уменьшают частоту радиомутаций у тутового шелкопряда. Одновременно [146] проводилось генетическое изучение цистеина на дрозофиле. Защитный эффект обнаружить не удалось.

В 1955 г. был выявлен еще один радиопротектор – гуанидиновое производное цистеамина – АЭТ [147]. Этот препарат оказался эффективным в защите от биологических эффектов облучения и менее токсичным по сравнению с другими SH-протекторами. Поэтому АЭТ неоднократно исследовали с точки зрения его радиозащитного действия, в том числе от генетического эффекта облучения. Так, уже в 1958 г. было изучено влияние АЭТ на мутагенный эффект облучения у дрозофилы и установлен эффект истинной сенсибилизации вместо защиты [148].

Производное АЭТ – аминоэтилизотиуромочевина. В результате ее испытаний [140] было обнаружено, что она не является защитным препаратом против индуцированных облучением доминантных деталей у мышей. Авторы предполагали, что причина полученных отрицательных результатов – низкая концентрация препарата в зародышевых клетках в период облучения. Действи-

тельно, при исследовании распределения цистеамина в организме мыши с помощью 5^{35} [150] наблюдалось неравномерное распределение протектора по органам, через 20 мин после внутривенной инъекции концентрация препарата в семенниках была очень низкой [150]. Вместе с тем существовали данные о снижении стерильности облученных животных при обработке их протекторами. Так, в работе [151] обнаружено уменьшение стерильности самок, а в работе [152] -самцов облученных мышей, которым инъецировали цистеамин. доказано, что инъекции цистеамина крысам до облучения заметно ослабляют процесс гибели сперматогониев [153]. Эти факты свидетельствовали о том, что даже малое поглощение протектора половыми клетками все-таки обеспечивает осуществление защиты их от гибели. Были основания полагать, что агенты, защищающие зародышевые клетки от гибели, могут защищать их и от генетических повреждений. Вот почему авторами работы [154] были подвергнуты сомнению исследования [141, 142] и проведено исследование по той же методике с цепью перепроверки результатов изучения генетической эффективности цистеамина. Им удалось показать, что цистеамин, не влияя на гибель эмбрионов в необлученной группе, снижает ее у облученных животных. При облучении мышей в дозе 300 Р частота доминантных летальных мутаций уменьшается с 26,9 до 22,7 %, а при облучении в дозе 600 Р – с 41,4 до 34,5 %.

Такое расхождение результатов с результатами, полученными в работах [142, 143], авторы объяснили различием в сроках введения препарата, который вводился ими за 15 мин до облучения, в то время как в данных работах препарат вводился за 4-7 мин. Этот интервал мог оказаться недостаточным для проникновения вещества в сперму.

Аналогичные результаты были получены и в работе [155] при исследовании, проведенном на мышах и на обезьянах. Внутрибрюшинное введение цистеамина за 10 мин до облучения различными дозами рентгеновского излучения снижало частоту хромосомных перестроек в зародышевых клетках мышей в среднем на 42,7 %. Обезьян облучали в дозе 200 Р и также обнаружили уменьшение числа хромосомных аберраций в сперматоцитах первого порядка на 50,8 %.

Однако вслед за работами, показавшими защитный эффект цистеамина против мутагенного действия облучения, появилась целая серия генетических исследований, в которых серосодержащие препараты оказались либо неэффективными, либо усиливали мутагенное действие облучения. Так, совместное действие АЭТ и рентгеновского излучения исследовалось на дрозофиле [156]. Введение АЭТ усилило радиочувствительность всех стадий сперматогенеза. К тому же АЭТ в этих опытах оказывал и мутагенное действие, в 2 раза увеличивая частоту сцепленных с полом летальных мутаций.

Наряду с этим было установлено, что цистеин не уменьшает выхода сцепленных с полом рецессивных леталей, а АЭТ усиливает частоту таких радиомутаций у дрозофилы [157].

Возможности уменьшения мутагенного эффекта облучения детально исследовались с помощью сульфгидрильных соединений у дрозофилы [158]. Изучалось влияние трех препаратов – цистеамина, АЭТ и глютатиона на возникно-

вение самых разнообразных мутаций: РЛМ, транслокаций, делеций, ДЛМ, а также потерь Х- и У-хромосом. Изучение проводилось с учетом всех стадий сперматогенеза. Оказалось, что ни один препарат не снизил частоты ни одного типа мутаций, ни на одной стадии развития зародышевых клеток. Более того, цистеамин увеличивал выход всех типов радиомутаций (кроме транслокаций) на той или другой стадии сперматогенеза. Глютатион увеличивал частоту потерь хромосом в сперматоцитах и доминантных летальных мутаций в сперматидах. Автор предположил, что изученные им препараты повышают частоту мутирования, затормаживая восстановительные процессы или уменьшая время, в течение которого происходит фиксация мутаций.

Полученные отрицательные результаты поставили под сомнение возможность генетической защиты от облучения [159]. Однако Кункель описал возможные физико-химические механизмы генетической защиты и признал такую защиту теоретически возможной. В то же время приведенные им данные генетических исследований цистеина и АЭТ на дрозофиле показали, что цистеин не влияет на частоту индуцированных облучением рецессивных летальных мутаций, а усиливает мутагенное действие облучения на 37 %. Вот почему вопрос о практической возможности защиты от радиогенетических поражений остался без ответа.

Тем не менее, среди серии отрицательных результатов были и положительные. Эксперименты выполнялись на мышах. Так, в работах [160,161] показано, что и цистеин, и АЭТ уменьшают на 6 % частоту ДЛМ, вызванных облучением в сперматидах мышей (защита на прочих стадиях не была существенной).

Защитный эффект при использовании АЭТ обнаружен и в работах [162-164], в которых исследовалось его влияние на эмбриональную гибель, обусловленную возникновением ДЛМ, на разных стадиях сперматогенеза у мышей. АЭТ защищает спермин мыши от возникновения в них радиомутаций при облучении в дозе 1200 Р и неэффективен при дозе 400 Р. Что же касается сперматид, то в них АЭТ снизил значительно предимплантационную гибель, вызываемую дозой 1200Р, и незначительно постимплантационную гибель при дозе 400 Р. Влияние АЭТ исследовалось на мутагенный эффект облучения у мышей по тесту хромосомных перестроек в сперматоцитах [165]. Эффект АЭТ, как и в первом случае, зависел от дозы радиации: при дозе 100 Р препарат вызывал статистически достоверную защиту (на 30 %), а при дозе 200 Р введение АЭТ, наоборот, усиливало повреждающее действие облучения. Исследования влияния АЭТ на частоту доминантных летальных мутаций, индуцированных облучением у мыши, подтвердили способность этого соединения защищать от генетических повреждений [166]. Правда, эффект был обнаружен только для сперматоцитов при облучении их в дозе 400 Р. Клетки, находящиеся на прочих стадиях сперматогенеза, защитить с помощью АЭТ не удалось. Одновременно изучался и цистафос, но он не дал никакого защитного эффекта.

Из описанных работ, в которых показана возможность защиты мышей от мутагенного действия облучения с помощью АЭТ, три проведены по одному и тому же тесту – частоте доминантных летальных мутаций. Попробуем их срав-

нить: в работах [160, 161] показано, что АЭТ защищает ранние сперматиды и неэффективен для других клеток сперматогенеза при облучении в дозе 600 Р. В работах [162-164] этот препарат защищал спермин и частично сперматиды при дозе 1200 Р и не давал эффекта при дозе 400 Р. В работе [166] обнаружена возможность защиты при облучении сперматоцитов в дозе 400 Р и отсутствие защиты на прочих стадиях. Таким образом, даже при исследовании одного и того же препарата на одном и том же объекте и по одному и тому же тесту результаты трудносравнимы. Концентрация препарата и время его введения относительно облучения во всех трех работах почти одинаковы. Исследование этого же соединения на крысах показало, что АЭТ не защищает этих животных от возникновения индуцированных облучением ДЛМ [167]. Такое же отсутствие эффекта было обнаружено автором при исследовании цистеамина.

Препараты АЭТ и цистеамин изучались также и на кроликах [168] с учетом частоты ДЛМ. Поскольку многие авторы связывали неудачи в осуществлении защиты половых клеток от облучения с плохим проникновением протектора в гонады через физиологические барьеры, в данном случае проводились облучение и обработка спермиев кролика in vitro. Защитные вещества вводились в эякулят, и спермин, таким образом, облучались либо в физиологическом растворе, либо в растворе протектора. Оказалось, что и в этом случае ни АЭТ, ни цистеамин не уменьшали мутагенного действия γ-лучей. Полученный результат уже нельзя объяснить непроникновением протектора в гонады, поэтому авторы считали более вероятным, что эти соединения не могут вступать в реакции, ведущие к защитному эффекту, с соответствующими молекулами, и в первую очередь с ДНК, сосредоточенной в головке сперматозоида.

За последующие 10 лет появились еще 4 работы, в которых изучалось радиозащитное действие сульфгидрильных соединений против мутагенного эффекта облучения у животных. В одной из них [169] исследовалось влияние цистеамина на частоту РЛМ. У дрозофилы эффекта обнаружено не было. Эта работа после исследований [142, 143] еще раз показала, что цистеамин не способен защищать половые клетки дрозофилы от возникновения в них радиомутаций. К такому же выводу пришли и авторы работы [170], показавшие отсутствие защитного действия цистеамина против индуцированных облучением рецессивных летальных мутаций у дрозофилы. Однако им удалось показать, что АЭТ снижает выход таких мутаций. Выявились некоторые специфические особенности этого препарата. Так, АЭТ, снижая частоту хромосомных леталей, одновременно увеличивает процент выхода хромосомных семилеталей.

Отсутствие защитного эффекта цистеамина против индуцированных рентгеновским излучением генетических повреждений у дрозофилы было показано и в работе [171], хотя глутатион в их опытах проявил защитное действие.

Четвертая работа выполнена на мышах [172]. При исследовании выхода доминантных летальных мутаций в постсперматогониальных стадиях обнаружено, что при облучении в дозе 100 Р цистамин повышает постимплантационную гибель эмбрионов, при облучении в дозе 300 Р, наоборот, снижает ее, а при облучении в дозе 600 Р оказывается неэффективным. На выход реципрокных транслокаций в сперматогониях мышей цистамин не влияет. Поскольку про-

никновению радиопротекторов в гонады препятствует гематотестикулярный барьер, который начинает функционировать у млекопитающих в первые недели постнатального периода, Померанцева [173] предположила, что степень защитного эффекта протектора можно увеличить, если препарат ввести до начала функционирования этого барьера. Для проверки данного предположения цистамин вводили беременным самкам накануне родов за 15 мин до облучения в дозе 3 Гр. В этот срок половые клетки самцов являются гоноцитами. Поскольку чувствительность эмбрионов к токсическому действию протектора выше, чем у взрослых животных, то концентрация вводимого цистамина составляла 50 мг/кг, т. е. в три раза ниже, чем та, которая применялась для защиты взрослых животных. Экспериментально было показано, что цистамин в такой дозе не снижал выхода реципрокных транслокаций, индуцированных облучением в сперматогониях половозрелых мышей. Оказалось, что использование цистамина для защиты самцов, облученных в эмбриогенезе, существенно снижает уровень реципрокных транслокаций, при этом степень защитного эффекта выше, чем при введении цистамина в трехкратной концентрации взрослым животным.

Литературные данные о влиянии серосодержащих протекторов на мутагенный эффект облучения, полученные разными авторами при испытании одних и тех же препаратов на одних и тех же объектах по исходным методикам, достаточно неоднородны. При этом на насекомых положительные результаты в подавляющем большинстве случаев не достигнуты. Что же касается исследований, проведенных на млекопитающих, то результаты их крайне противоречивы (табл. 2.1). Таким образом, эти сведения не дают возможности считать хотя бы какой-либо из серосодержащих протекторов эффективным радиозащитным средством против мутагенного эффекта облучения в половых клетках животных.

Амины

По своему радиозащитному действию против летального эффекта облучения некоторые амины соперничают с серосодержащими препаратами. Протекторные свойства аминов, очевидно, обусловлены создаваемой ими гипоксией. Поскольку путем снижения концентрации кислорода можно уменьшить генетический эффект облучения, казалось вероятным, что препараты, вызывающие гипоксию, проявят защитное действие и против мутагенного эффекта радиации. Однако при генетическом исследовании аминов, наиболее эффективных в защите от лучевой гибели, в большинстве случаев получены отрицательные результаты. Так, в работе [174] инъекции мегафена перед облучением не оказали никакого влияния на частоту рецессивных летальных мутаций у дрозофилы.

В то же время удалось показать [157], что инъекции серотонина уменьшают частоту индуцированных облучением рецессивных летальных мутаций в зрелых спермиях дрозофилы, хотя в более поздней работе [175] получен противоположный эффект: под влиянием серотонина частота радиомутаций в зрелых

спермиях дрозофилы увеличивалась в 2 раза. Помимо эффекта сенсибилизации авторы обнаружили и сильный мутагенный эффект серотонина – уровень спонтанных мутаций под влиянием этого препарата повысился в 3 раза.Аналогичные результаты получены в работе [176], в которой авторы использовали те же концентрации серотонина (инъекции 1%-ного раствора) при облучении дрозофилы в той же дозе и получили увеличение выхода рецессивных сцепленных с полом мутаций в 2 раза.

Получен и другой результат: влияние серотонина на частоту рецессивных летальных мутаций у дрозофилы не обнаружено [170]. Авторы, исследовали и эффективный радиопротектор – мексамин. Этот препарат также не защищал половые клетки дрозофилы от возникновения в них хромосомных и хроматидных леталей и полулеталей [170]. Однако в работе [166] показана защита половых клеток мышей от индуцированных генетических повреждений с помощью мексамина, но эффективность защиты зависела от стадии развития зародышевых клеток и дозы радиации. Так, при облучении сперматоцитов наблюдалось небольшое снижение частоты радиомутаций лишь при дозе 600 Р. При воздействии на сперматиды защитный эффект проявлялся лишь при дозе 400 Р, а при воздействии на сперматозоиды мексамин оказался неэффективным при всех дозах облучения (200, 400, 600 Р).

Итак, все исследователи, изучавшие серотонин и аминазин (мегафен), показали либо отсутствие эффекта, либо эффект сенсибилизации (табл. 2.2). Действие мексамина проверено только в двух работах, причем на различных объектах. В работе [166] показано, что этот препарат защищает от облучения в дозе 400 Р только сперматиды, а при дозе 600 Р – только сперматоциты мышей. На дрозофиле защитного эффекта мексамина не обнаружено [170].

Таким образом, амины, так же как и серосодержащие радиопротекторы, малоэффективны (или совсем неэффективны) в защите половых клеток животных от мутагенного действия ионизирующей радиации.

Таблица 2.2 **Влияние аминов на мутагенный эффект облучения**

Объект исследования	Концентрация	Время введения вещества до облучения, мин	Доза облучения, Р	Исследованные тесты	Стадии сперматогенеза	Полученный результат	Литература
			Серотонин				
Дрозофила	1 % (по 1 мл)	–	3000	РЛМ	–	усиление	175
	1 % (по 0,1 мл)	–	3000	»	–	»	176
	0,5 % (скармливание)	–	1000	»	все стадии	нет эффекта	170
			Мегафен (аминозин)				
»	0,5 %	10–90	1500	»	то же	то же	174
			2000	»	»	»	
			3000	»	»	»	
			5-метокситриптамин (мексамин)				
»	0,25 %	–	1000	»	все стадии	»	170
Мыши	0,08 мг/г	10–15	400	ДЛМ	сперматиды	защита	166
				»	остальные стадии	нет эффекта	
			600	»	сперматоциты	защита	
				»	остальные стадии	нет эффекта	
			200	»	все стадии	то же	

Таблица 2.3. **Влияние антибиотиков на мутагенный эффект облучения**

Объект исследования	Концентрация	Время введения вещества до облучения, мин	Доза облучения, Р	Исследованные тесты	Стадии сперматогенеза	Полученный результат	Литература
			Актиномицин Д				
Дрозофила	$1 \cdot 10^{-3}$ М (скармливание)	–	3000	РЛМ	–	защита	177
	$5\ 10^{-4}$ М	25	1000	летали	спермии	усиление	179
				в кольцевой Х-хромосоме	сперматиды	защита	
	1 мг/мл	360	600	РЛМ	»	»	182
					сперматоциты	»	
					остальные стадии	нет эффекта	
	0,1 мг/мл	–	2000	потери Х-хромосом	все стадии	усиление	184
				нерасхождение Х-хромосом	все стадии	усиление	
Дрозофила	10 мг/мл	–	2000	ДЛМ	спермии	»	185
Мыши	1,75 мг/кг	30–40	200	«	»	»	190
					сперматоциты	аддитивность	
				мутации специфических локусов	сперматогонии	усиление	191
			Пенициллин				
Дрозофила	10000–80000 ед/мл (скармливание)	–	3000	РЛМ	все стадии	защита	178
	0,1 % (по 0,1 мл)	30	1000	»	сперматиды	»	186
					остальные стадии	нет эффекта	
	20000 ед/мл (скармливание)	–	500	»	спермии	защита	187
			1000				
			2000				
			3000				
			Митомицин С				
»	100 γ	–	600	»	сперматиды	»	193
					сперматоциты	»	
					сперматогонии	усиление	
	100 мкг/мл	до и после	500–4000	видимые в 12 локусах	остальные стадии	нет эффекта	191, 192
					постмейотические		
				частичные		защита	
				полные		нет эффекта	
			Стрептомицин				
»	0,1 % (по 0,1 мл)	30	1000	»	сперматиды	то же	186
					остальные стадии	»	
	$5 \cdot 10^{4}$ γ/мл	–	1000	»	все стадии	»	188
			3000	»	то же	»	
Мыши	0,5 мг/мышь	480	150	хромосомные перестройки	сперматоциты	защита	189
	1,0 мг/мышь	480		то же	»	»	
	3,0 мг/мышь	480		»	»	нет эффекта	
	5,0 мг/мышь	480		»	»	то же	
			Хлорамфеникол				
Дрозофила	0,04 мг/мл	90	1200	РЛМ	спермии	усиление	180
					сперматиды	защита	
	0,25 % (по 0,1 мл)	30	1000	»	»	»	186
					остальные стадии	нет эффекта	
Мыши	1,5 г/кг	240	600	ДЛМ	спермии	усиление	190
					сперматиды	нет эффекта	

Таблица 2.4. **Влияние фенольных соединений на мутагенный эффект облучения**

Объект исследования	Концентрация	Время введения вещества до облучения, мин	Доза облучения, Р	Исследованные тесты	Стадии сперматогенеза	Полученный результат	Литература
			2,4-динитрофенол				
Дрозофила	0,05 %	10	1000	РЛМ	сперматоциты	защита	200
	0,003 % (скармливание)		1000	транслокации	≫	≫	
	0,05 %		1000	ДЛМ	≫	≫	201
	0,5 мг/мл	240	1000	≫	ранние стадии	нет эффекта	204
	0,5 мг/мл (скармливание)			РЛМ	спермии	то же	202
	0,15 мкг/муху	0			сперматиды	защита	
					спермии	≫	203
					остальные стадии	нет эффекта	
	0,30 мкг/муху	0	1000	≫	спермии	защита	203
					сперматиды	≫	203
					сперматоциты	≫	203
					сперматогонии	нет эффекта	
	0,45 мкг/муху				все стадии	то же	

Антибиотики

Особую группу среди модификаторов метаболизма представляют антибиотики. Их исследование в качестве возможных протекторов против генетического эффекта облучения у животных началось в работах [177, 178] и [179, 180]. В работах [177, 178] исследовано два антибиотика: актиномицин Д и пенициллин. Актиномицин Д, вводимый с питательной средой, эффективно (на 40 %) уменьшал частоту рецессивных летальных мутаций в Х-хромосоме дрозофилы после рентгеновского облучения в дозе 3000 Р. Пенициллин также снижал частоту индуцированных облучением рецессивных летальных мутаций на всех стадиях развития зародышевых клеток. Результаты эти были интересны, тем более что пенициллин не обладает такой высокой токсичностью, как серосодержащие радиопротекторы (однако в работах [177, 178] показано, что сам по себе пенициллин несколько повышает частоту спонтанных мутаций).

Такие антибиотики, как актиномицин Д и хлорамфеникол, исследовались в работах [179-181]. Оказалось, что оба антибиотика уменьшали частоту индуцированных облучением мутаций на стадии сперматид и поздних сперматоцитов, увеличивая их количество в зрелой сперме.

Аналогичные результаты при испытании актиномицина Д получены в работе [182]: препарат способен уменьшать частоту рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций, вызываемых у дрозофилы Vлучами в дозе 600 рад на стадиях сперматид и сперматоцитов.

Однако после первых положительных результатов последовал ряд работ по радиозащитному эффекту антибиотиков, в которых выявлена примерно такая же противоречивая картина, как и при исследовании генетической защиты 8Н-содер-жащими протекторами. Так, при изучении актиномицина Д обнаружен не защитный, а усиливающий эффект этого соединения. В 1965 г. вышла статья Оливьери [183], в которой был описан эффект сенсибилизации в сперматоцитах дрозофилы под действием актиномицина Д (применялось β-

излучение). При изучении влияния этого соединения на частоту вызванных облучением потерь и нерасхождения Х-хромосом у дрозофилы было показано, что актиномицин Д усиливает индукцию обоих типов мутаций на всех стадиях сперматогенеза, причем не только у облученных, но и у необлученных особей [184]. При этом частота Х-хромосом увеличивалась под действием актиномицина Д на два порядка по сравнению с контрольной группой.

При введении актиномицина Д частота ДЛМ в зрелых спермиях самцов повышалась в 4 раза по сравнению с контрольной группой [185]. Этот высокий сенсибилизирующий эффект был статистически достоверен во всех проведенных экспериментах.

Что касается пенициллина, то при дальнейших исследованиях оказалось, что он снижает частоту радиомутаций не на всех [177], а лишь на некоторых стадиях сперматогенеза. При этом в работе [186] показано, что пенициллин защищает только сперматиды, а в [187] обнаружен радиозащитный эффект этого препарата в спермиях дрозофилы. Оба автора исследовали частоту рецессивных летальных мутаций в кольцевой Х-хромосоме. Методика проведения исследований в обеих работах различалась только способом введения веществ в организм – в одном случае инъекции, в другом – скармливание с питательной средой. Это позволило предположить [187], что разница в полученных результатах объясняется тем, что эффект пенициллина обусловлен не прямой защитой от облучения, а вторичным влиянием на метаболическую активность развивающихся зародышевых клеток. Поэтому для проявления защитного эффекта в зрелых спермиях пенициллин должен вводиться в организм задолго до облучения, как это происходит при выращивании мух на питательной среде с добавлением в нее препарата.

Наряду с пенициллином исследовались и антибиотики – хлорамфеникол и стрептомицин [186]. Все эти три препарата одинаково (на 30-50 %) уменьшали частоту радиомутаций на стадии сперматид. Однако, по данным [188], стрептомицин не способен защищать зародышевые клетки дрозофилы от возникновения радиомутаций. В обеих работах [186, 188] применялись инъекции препарата в близких концентрациях самцам дрозофилы перед облучением их одинаковой дозой 1000 Р и исследовался один и тот же тест – частота рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций на всех стадиях сперматогенеза дрозофилы. Кроме того, в работе [188] стрептомицин скармливался с питательной средой, но и этот метод не выявил способности препарата уменьшать частоту индуцированных облучением мутаций.

Влияние антибиотиков на генетический эффект облучения у млекопитающих впервые было изучено в работе [189]. Стрептомицин в низких концентрациях (0,5-1 мг/мышь) вызывал уменьшение индукции хромосомных перестроек в половых клетках в среднем на 50 %, а в более высоких (3-5 мг/мышь) был неэффективным в защите от радиомутаций и повысил частоту спонтанных мутаций.

Хлорамфеникол и митомицин С исследовались на мышах [190]. В результате исследований установлено, что хлорамфеникол повышает выход ДЛМ в сперматозоидах более чем на 50 %, не влияя на радиочувствительность сперма-

тид и не оказывая мутагенного действия. В то же время митомицин С оказался мутагеном для всех стадий сперматогенеза и проявил выраженный синергический эффект в сперматоцитах. Поскольку митомицин является ингибитором биосинтеза ДНК, было предположено, что синергический эффект в сперматоцитах является следствием взаимодействия ионизирующей радиации и митомицина во время синтеза ДНК [190]. Показано также, что внутрибрюшинные инъекции митомицина С увеличивают частоту индуцированных облучением мутаций специфических локусов в сперматогониях мышей [191].

Митомицин С исследовался и на дрозофиле [192]. Результаты показали, что сам антибиотик вызывает высокую частоту мутаций на всех стадиях сперматогенеза. Примененный же перед облучением, митомицин проявляет аддитивное действие. Однако на стадиях поздних сперматид и ранних сперматоцитов суммарная часть мутаций уменьшается, а на стадии сперматогониев увеличивается. На основании этого автором сделан вывод, что снижение уровня радиомутаций под влиянием митомицина С, как и актиномицина Д, на стадиях сперматид и сперматоцитов является следствием ингибирования репликации ДНК [192].

Интересно, что полученный при исследовании митомицина С противоположный результат (синергический эффект на стадии сперматоцитов) автор работы [190] также объяснял способностью данного антибиотика ингибировать биосинтез ДНК. В этом случае синергический эффект, по мнению автора, является следствием взаимодействия ионизирующей радиации и митомицина во время синтеза ДНК. При дальнейшем исследовании митомицина С было обнаружено, что он снижает частоту частичных видимых мутаций в 12 локусах, но не влияет на выход полных мутаций такого типа [193, 194].

Результаты, полученные при испытании антибиотиков в качестве возможных протекторов против генетического действия облучения, трудносопоставимы, так как в большинстве исследований применялись различные методики и, в частности, разные генетические тесты. Но даже в тех редких случаях, когда условия эксперимента были достаточно однородными, результаты оказывались разными (табл. 2.3) [186-188].

При введении актиномицина Д частота ДЛМ в зрелых спермиях самцов повышалась в 4 раза по сравнению с контрольной группой [185]. Этот высокий сенсибилизирующий эффект был статистически достоверен во всех проведенных экспериментах.

Что касается пенициллина, то при дальнейших исследованиях оказалось, что он снижает частоту радиомутаций не на всех [177], а лишь на некоторых стадиях сперматогенеза. При этом в работе [186] показано, что пенициллин защищает только сперматиды, а в [187] обнаружен радиозащитный эффект этого препарата в спермиях дрозофилы. Оба автора исследовали частоту рецессивных летальных мутаций в кольцевой Х-хромосоме. Методика проведения исследований в обеих работах различалась только способом введения веществ в организм – в одном случае инъекции, в другом – скармливание с питательной средой. Это позволило предположить [187], что разница в полученных результатах объясняется тем, что эффект пенициллина обусловлен не прямой защитой от

облучения, а вторичным влиянием на метаболическую активность развивающихся зародышевых клеток. Поэтому для проявления защитного эффекта в зрелых спермиях пенициллин должен вводиться в организм задолго до облучения, как это происходит при выращивании мух на питательной среде с добавлением в нее препарата.

Наряду с пенициллином исследовались и антибиотики -- хлорамфеникол и стрептомицин [186]. Все эти три препарата одинаково (на 30-50 %) уменьшали частоту радиомутаций на стадии сперматид. Однако, по данным [188], стрептомицин не способен защищать зародышевые клетки дрозофилы от возникновения радиомутаций. В обеих работах [186, 188] применялись инъекции препарата в близких концентрациях самцам дрозофилы перед облучением их одинаковой дозой 1000 Р и исследовался один и тот же тест – частота рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций на всех стадиях сперматогенеза дрозофилы. Кроме того, в работе [188] стрептомицин скармливался с питательной средой, но и этот метод не выявил способности препарата уменьшать частоту индуцированных облучением мутаций.

Влияние антибиотиков на генетический эффект облучения у млекопитающих впервые было изучено в работе [189]. Стрептомицин в низких концентрациях (0,5-1 мг/мышь) вызывал уменьшение индукции хромосомных перестроек в половых клетках в среднем на 50 %, а в более высоких (3-5 мг/мышь) был неэффективным в защите от радиомутаций и повысил частоту спонтанных мутаций.

Хлорамфеникол и митомицин С исследовались на мышах [190]. В результате исследований установлено, что хлорамфеникол повышает выход ДЛМ в сперматозоидах более чем на 50 %, не влияя на радиочувствительность сперматид и не оказывая мутагенного действия. В то же время митомицин С оказался мутагеном для всех стадий сперматогенеза и проявил выраженный синергический эффект в сперматоцитах. Поскольку митомицин является ингибитором биосинтеза ДНК, было предположено, что синергический эффект в сперматоцитах шляется следствием взаимодействия ионизирующей радиации и митомицина во время синтеза ДНК [190]. Показано также, что внутрибрюшинные инъекции митомицина С увеличивают частоту индуцированных облучением мутаций специфических локусов в сперматогониях мышей [191].

Митомицин С исследовался и на дрозофиле [192]. Результаты показали, что сам антибиотик вызывает высокую частоту мутаций на всех стадиях сперматогенеза. Примененный же перед облучением, митомицин проявляет аддитивное действие. Однако на стадиях поздних сперматид и ранних сперматоцитов суммарная часть мутаций уменьшается, а на стадии перматогониев увеличивается. На основании этого автором делан вывод, что снижение уровня радиомутаций под влиянием митомицина С, как и актиномицина Д, на стадиях сперматид и сперматоцитов является следствием ингибирования репликации ДНК [192].

Интересно, что полученный при исследовании митомицина С противоположный результат (синергический эффект на стадии сперматоцитов) автор работы [190] также объяснял способностью данного антибиотика ингибировать

биосинтез ДНК. В этом случае синергический эффект, по мнению автора, является следствием взаимодействия ионизирующей радиации и митомицина во время синтеза ДНК. При дальнейшем исследовании митомицина С было обнаружено, что он снижает частоту частичных видимых мутаций в 12 локусах, но не влияет на выход полных мутаций такого типа [193,194].

Результаты, полученные при испытании антибиотиков в качестве возможных протекторов против генетического действия облучения, трудносопоставимы, так как в большинстве исследований применялись различные методики и, в частности, разные генетические тесты. Но даже в тех редких случаях, когда условия эксперимента были достаточно однородными, результаты оказывались разными (табл. 2.3) [186-188].

Фенолы

Первые исследования влияния кислорода на генетическую радиочувствительность половых клеток показали, что облучение в кислороде повышает частоту радиомутаций, в то время как аноксия оказывает явное защитное действие [195, 196]. В дальнейшем была тщательно изучена роль кислорода и азота в радиационном поражении клеток, находящихся на-различных стадиях сперматогенеза у дрозофилы [197-199].

Возможность изменения радиочувствительности зародышевых клеток под влиянием таких факторов, как гипоксия или облучение в кислороде, явилась предпосылкой для исследования некоторых химических соединений – модификаторов метаболизма.

Так, в 1961 г. появилась работа [200], в которой сообщалось об исследовании ДНФ. Это вещество разобщает дыхание и окислительное фосфорилирование, не прерывая транспорта электронов в дыхательной цепи. При введении ДНФ личинкам дрозофилы двумя способами (скармливание и инъекции) была уменьшена частота рецессивных летальных мутаций, транслокаций и нехваток, индуцируемых облучением в дозе 1000Р в сперматоцитах. В среднем защитный эффект составлял от 50 до 80 %.

Аналогичный эффект, хотя и меньший в количественном отношении, получен в работе [201] при исследовании влияния ДНФ. Работа проведена также и на дрозофиле, препарат инъецировали в той же концентрации, изучались также сперматоциты, облученные в такой же дозе 1000 Р. Однако Стегер исследовал частоту ДЛМ и получил уменьшение этого типа радиомутаций на 12%.

Этот препарат исследовался для выяснения вопроса, не влияет ли он на зрелые половые клетки дрозофилы [202]. Оказалось, что ДНФ эффективно защищает сперматиды (частота рецессивных летальных мутаций снижается на 30 %), но не защищает спермин. Однако в работе [203] защита спермиев была осуществлена с помощью инъекции 2,4-динитрофенола, причем при увеличении концентрации препарата от 0,15 до 0,30 мкг на муху эффективность защиты увеличивалась с 30 до 50 % [203]. При дальнейшем увеличении концентрации до 0,45 мкг защитный эффект не был обнаружен. Интересно отметить, что

ДНФ в концентрации 0,30 мкг на муху оказал защитное действие не только на спермин, но и на радиочувствительные стадии -сперматиды и сперматоциты.

Таким образом, согласно [203] эффективность ДНФ меняется в зависимости от его концентрации. Поэтому отсутствие защиты спермиев в работе [202] отнюдь не противоречит полученным позднее результатам. Сравнивать эти работы трудно, несмотря на один и тот же объект исследования, одинаковые тесты и дозы облучения. Дело в том, что авторы работы [203] использовали инъекции препарата в строго определенной концентрации – от 0,06 до 0,45 мкг на муху, в работе же [202] препарат скармливался с питательной средой в концентрации 0,5 мг/мл среды, что не дает сведений о количестве препарата, поступившего в организм дрозофилы.

Тем не менее в работах, выполненных по сходным методикам, получены аналогичные результаты. Во всех этих исследованиях показано, что 2,4-динитрофенол защищает от мутагенного действия облучения радиочувствительные стадии дрозофилы, а в работе [203], кроме того, получено снижение частоты радиомутаций в спермиях.

Исключение составляет работа [204], выполненная также на дрозофиле, в которой ДНФ оказался неэффективным. Таким образом, некоторые фенолы, такие, например, как ДНФ, способны защищать половые клетки дрозофилы от мутагенного действия ионизирующей радиации (табл. 2.4). К сожалению, в литературе нет сведений о влиянии этого препарата на генетический эффект облучения у млекопитающих.

Противопоказанием применения ДНФ в качестве радиопротектора служит его метаболическая активность, поскольку вещество препятствует окислительному фосфорилированию и является ассимиляторным ядом, так как может заменить нормальное вещество в физиологических реакциях благодаря химическому сходству с ним [205]. Поскольку проводившиеся более 20 лет (с 1953 по 1975 г.) исследования показали, что традиционные радиопротекторы малоэффективны в защите половых клеток животных от мутагенного действия облучения, поиски антимутагенных препаратов были перенесены в другую область. Внимание исследователей привлекли природные соединения, представляющие интерес по двум причинам. Во-первых, известно, что некоторые виды живых организмов обладают высокой радиоустойчивостью. Следовательно, внутри организма существуют какие-то факторы резистентности. Поскольку в живой природе можно обнаружить такие совершенные формы и реакции, которые намного превосходят придуманные человеком аналоги, то поиски веществ, „созданных" эволюцией для защиты организма от облучения, могут быть весьма перспективными.

Во-вторых, естественные вещества для организма, даже будучи использованы в больших концентрациях, чем в норме, окажутся менее токсичными по сравнению с синтезированными искусственно.

Все это побудило исследователей обратиться к таким соединениям, как ДНК и ее предшественники, АТФ и т. д.

Вещества естественного происхождения

В первых работах по изучению предшественников ДНК было показано, что предварительное воздействие нуклеозидов уменьшает частоту радиационно-индуцированных сцепленных с полом рецессивных летальных мутаций в постмейотических клетках дрозофилы [206]. Обработка же предмейотических клеток галогеновыми производными пиримидина (5-бромдиоксиуридином и 5-бромдиоксицитидином) увеличила частоту рецессивных летальных мутаций, но не повлияла на выход транслокаций в сперматогониях дрозофилы [207].

Влияние препаратов ДНК на мутагенный эффект ионизирующей радиации в половых клетках самцов мышей было исследовано в работе [208]. Анализировались частота ДЛМ в постмейотических клетках и частота реципрокных транслокаций в сперматогониях. Под влиянием ДНК частота доминантных деталей в ранних сперматидах уменьшилась с 67,0 до 62,1 %. В поздних, наоборот, наблюдалось усиление мутагенного эффекта облучения. В сперматогониях частота транслокаций также возросла с 4,4 до 5,8 %. Более эффективным оказалось использование АТФ в смеси с радиопротекторами. Так, в работах [209, 210] сообщается о защитной эффективности смеси АТФ с ацетуроном и АЭТ против индукции облучением транслокаций в сперматогониях мышей.

При применении АТФ в смеси с метионином и цистеином получено снижение выхода рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций, индуцированных облучением у дрозофилы [211,212].

Хороший защитный эффект против генетических повреждений, вызванных облучением у мышей, был показан при использовании АТФ [213-216]. Влияние смеси АТФ, АЭТ и серотонина, вводимой самцам внутрибрюшинно за 8 мин до облучения в дозе 400 Р, изучалось в соотношении 45:3:1. Частота индуцированных реципрокных транслокаций в сперматогониях мышей при этом снизилась примерно в 2 раза (с 8,65 ± 1,2 до 4,05 ± 0,6 %). При исключении АТФ из смеси наблюдалась лишь тенденция к снижению частоты мутаций. В отсутствие облучения АТФ снижал в 2 раза выход транслокаций, индуцированных смесью АЭТ и серотонина (статистически недостоверно из-за малых величин).

Интересно, что при защите мышей от лучевой гибели вклад АТФ незначителен – защитное действие смеси АТФ + АЭТ + серотонин и смеси АЭТ + серотонин одинаково. Таким образом, эти исследования показали, что радиопротекторы АЭТ и серотонин, снижающие смертность облученных животных, малоэффективны против генетического действия радиации и для защиты от индуцированных облучением мутаций могут использоваться вещества, малоспособные повышать выживаемость облученных животных.

Внимание исследователей привлекла антимутагенная активность α-токоферола (витамина Е). Это соединение оказалось способным подавлять мутагенез, вызываемый химическими и Физическими мутагенами, вирусами, старением и т. д. [217-219]. Исследование радиозащитной эффективности α - токоферола в половых клетках было предпринято в работе [220]. Самцов дрозофилы, выращенных на среде с витамином Е, облучали рентгеновским излуче-

нием и через 24 ч скрещивали с виргильными самками тесторной линии. При этом, если самки выращивались на нормальной питательной среде, снижение выхода рецессивных летальных сцепленных с полом мутаций не обнаруживалось. Если же не только самцы, но и самки вскармливались питательной средой с токоферолом, то частота индуцированных облучением мутаций значительно снижалась. Авторы (предположили, что α -токоферол не влияет на образование первичных радиационных эффектов, но модифицирует репарацию предмутационных повреждений, возникающих в зрелых половых клетках самцов и репарируемых после оплодотворения ферментами самки.

Большое внимание уделяется исследованию антимутагенного действия различных растений. Многочисленные позитивные результаты, полученные при испытании антимутагенного действия растений, вызвали интерес к растительным экстрактам и у радиобиологов. В частности, исследовалось влияние фитонцидов чеснока и вытяжки из листьев эвкалипта на мутационный процесс, индуцированный ионизирующей радиацией у дрозофилы [221]. Показано, что использование чеснока не изменило индукции облучением рецессивных летальных мутаций и транслокаций между II и III хромосомами, а вытяжка из эвкалипта оказала хорошее защитное действие против генетического эффекта γ-лучей.

Таким образом, поиски эффективных противолучевых антимутагенов продолжаются. Необходимо, чтобы они удовлетворяли трем критериям: 1) стабильности, 2) эффективности и 3) нетоксичности. Однако ни один из известных нам радиопротекторов не удовлетворяет данным критериям. Так, большинство традиционных радиопротекторов, имеющих стабильную химическую структуру, эффективны лишь в высоких токсичных концентрациях, а вытяжки растений практически нетоксичны, но не имеют стабильной химической структуры. Все это требует дальнейших теоретических и экспериментальных исследований с целью поисков оптимальных радиозащитных препаратов.

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ ОТ РАДИОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ

Некоторые общие механизмы защиты

С момента установления возможности химической защиты от облучения было выдвинуто много гипотез механизмов радиозащитного действия химических веществ [408-417].

Рассмотрим некоторые гипотезы, которые могут представлять интерес с точки зрения защиты генетических структур от мутагенного действия излучения.

Концепция общего (единого) механизма защиты клеток от ионизирующей радиации, основанная на представлениях о скрытых радиационных повреждениях макромолекул и возможности предотвращения их реализации путем множественной адсорбции на макромолекулах низкомолекулярных соединений разной химической природы (адсорбционный механизм), изложена в работе [418]. Благодаря такой адсорбции увеличивается период, в течение которого повреждения могут быть репарированы. Предполагается, что молекулы различных низкомолекулярных веществ, адсорбируясь в значительном количестве на макромолекулах, скрепляют их структуру и препятствуют тем самым конформационным изменениям. Чем больше времени проходит после облучения, тем выше вероятность разблокировки молекулы в результате флуктуации числа молекул примеси, адсорбированной на ней.

Неспецифичность рассматриваемого механизма защиты касается только природы основного физического процесса, его обусловливающего, т. е. упрочения структуры макромолекул в результате адсорбции больших концентраций примесей. Конкретно же каждое вещество стабилизирует структуру данной макромолекулы по-своему.

Возможно, что такой механизм защиты может предохранять и от генетических повреждений. По мнению Л. Х. Эйдуса, для этого вовсе не обязательна адсорбция примесей на самих наследственных структурах, достаточно защитить макромолекулы, участвующие в каком-либо из процессов, связанных с образованием хромосомных аберраций. Эти макромолекулы могут находиться не только в ядре, но и в цитоплазме, и в мембранах [415]. Такой механизм может быть эффективным и для защиты самих ДНК и ДНП от повреждений, связанных с нарушением строения этих молекул. Так, в работе [419] сделан вывод о возможности предотвращения повреждений надмолекулярных структур ДНК и ДНП с помощью „структурной защиты”. Этот механизм защиты рассматривается Л. Х. Эйдусом как один из случаев проявления адсорбционного механизма [416].

Согласно работе [420] действие радиопротекторов независимо от их химической природы является следствием повышения уровня тиолов как в изоли-

рованных клетках, так и в целостном организме, а снижение содержания SH-групп с помощью специфических блокаторов обусловливает сенсибилизирующий эффект этих соединений.

Большинство исследователей разделяют точку зрения о том, что защитное действие радиопротекторов связано с „биохимическим шоком" [421], вызываемым ими в клетке. Так или иначе, действие радиопротекторов, защищающих от лучевой гибели, связывают с их влиянием на клеточный метаболизм. В связи с этим нам кажется интересной гипотеза Лангендорффов, согласно которой существует прямая связь между радиопротекторами и механизмом цАМФ (аденозин-3-5-монофосфат) [422]. По мнению авторов, протектор транспортируется к эффекторным клеткам, где взаимодействует с регуляторными субъединицами или рецепторами аденилциклазной системы. Эта система имеет каталитические субъединицы внутри эффекторной клетки. Такое взаимодействие между рецепторами и протекторами вызывает активацию аденилциклазной системы, роль которой заключается в превращении АТФ в циклическую АМФ. Активация этой энзимной системы приводит к увеличению уровня цАМФ в эффекторной клетке [423]. Очевидно, эффективность протекторов в защите животных обусловлена их способностью стимулировать специфическую физиологическую активность эффекторных клеток, которая в противном случае уменьшалась бы в результате облучения. Для того, чтобы получить эффективную защиту, необходим уровень цАМФ в клетке более высокий, чем в норме.

Следовательно, согласно этой гипотезе механизм действия радиопротекторов самой различной химической природы сводится к стимулированию реакций, повышающих уровень циклических АМФ в клетке. Как известно, именно молекулам цАМФ обычно отводится роль регуляторов метаболических процессов. Гипотеза Лангендорффов объясняет роль радиопротекторов в защите от гибели облученных животных. Возможно, эти же процессы, нормализующие состояние облученной клетки, могут играть роль и в защите от мутагенного действия облучения, например благоприятствовать процессам репарации.

Существует представление о комплексном механизме действия аминотиолов, согласно которому после введения в организм радиопротектора происходит обратимое кратковременное ингибирование радиочувствительных биохимических процессов репликации ДНК, биосинтеза РНК и белка, а также процессов окислительного фосфорилирования [424]. В основе этих явлений лежит способность аминотиолов образовывать адсорбционные тиоэфирные, амидные и дисульфидные связи с ферментами, что приводит к ингибированию биохимических процессов и тем самым увеличивает возможность репарации.

Наряду с этим существует мнение, что радиопротекторы оказывают защитное действие за счет мобилизации восстановительной системы клетки, поскольку объекты с хорошо скоординированной системой репарации ДНК (например, клетки Micrococus radiodurans) радиопротекторами не защищаются. Причем радиопротекторы оказываются тем эффективнее, чем сильнее осуществляют релаксацию ДНК [425, 426].

В научной литературе нет единого мнения о механизмах радиозащитного действия протекторов. Так, в работах [427-431] излагаются различные точки

зрения на принципы радиопротекторной активности серосодержащих соединений. С одной стороны, утверждается, что цистеамин стабилизирует структуру ДНК за счет образования S-S-сшивок и предотвращает расхождение концов поврежденной цепи, что требует для осуществления акта защиты высокой концентрации протектора. С другой – цистамин угнетает синтез ДНК, что создает условия для ее наиболее полной репарации. Авторы даже предлагают использовать способность химических веществ угнетать процессы синтеза ДНК в качестве ориентировочного критерия для отбора новых радиопротекторов [428].

По мнению авторов работы [429], все существующие радиопротекторы являются донорами электронов и поэтому критерием для отбора радиозащитных препаратов могут быть их донорно-акцепторные свойства.

Согласно работе [430] цистеамин увеличивает доступность повреждений к ферментам репарации за счет релаксации ДНК хроматина.

Совершенно противоположное мнение о влиянии цистеамина на релаксацию ДНК высказано в работе [431], в которой отмечено, что цистеамин повышает конденсацию хромосом и уменьшает доступность ДНК действию нуклеаз, вследствие чего уменьшается выход ферментативных двунитевых разрывов.

На первый взгляд многие из общепринятых гипотез механизмов действия радиопротекторов противоречат друг другу, однако это не так. Все они отражают разные стороны сложных физико-химических и биохимических явлений, происходящих в облученной клетке при введении в нее радиопротектора. Мы прикасаемся с разных сторон к системе сложнейших механизмов и процессов, происходящих в клетке, и делаем противоречивые выводы, если не видим целого. Разнообразные радиобиологические эффекты, выявленные различными авторами, могут быть взаимосвязаны и взаимозависимы. Например, в работе [432] показано, что мутация rad 51, ответственная в клетках дрожжей за дефектность репарационной системы, обусловливает и нарушение регуляции синтеза SH-групп. Следовательно, содержание эндогенных тиолов в клетке каким-то образом связано с протеканием в ней репарационных процессов. К аналогичному выводу пришли и другие исследователи. Так, в работе [433] отмечается, что тиолы, осуществляя свое защитное действие, связывают кислород, увеличивают содержание SH-групп и вызывают неспефицическую реакцию („биохимический шок"), при которой возрастает объем ферментативной репарации.

Согласно работе [434] радиопротекторы самой разной природы вызывают в организме одни и те же биохимические изменения, поскольку действие протекторов опосредуется системой цАМФ. Эти наблюдения позволили объединить различные гипотезы механизмов радиозащитного действия в единый „каскадный механизм", состоящий из ряда ступеней. На первой ступени при введении радиопротектора происходит выброс в кровь комплекса биогенных аминов. На второй ступени под влиянием биогенных аминов активируется система цАМФ, на третьей – запускаются цАМФ-зависимые метаболические процессы, имеющие прямое отношение к радиочувствительности клетки [434].

Таким образом, гипотезы биохимического шока Бака [412], увеличения уровня цАМФ [422] и повышения уровня эндогенных биогенных аминов [435] взаимосвязаны.

Очевидно, процессы, рассмотренные в этих гипотезах, не являются непосредственными исполнителями радиозащитного действия, а лишь отражают происходящие в клетке изменения, необходимые для увеличения в ней количества защитных агентов, таких как аутоантимутагены, антиоксиданты и др., которые по своей химической природе могут быть свободными небелковыми тиолами, фенолами (в частности, меланином). Эти защитные агенты могут осуществлять свое действие на основе донорства водорода или электрона, дезактивации свободных радикалов, стабилизации структуры макромолекул и т. п. [417]. Такие процессы могут защищать от первичных повреждений как саму ДНК, так и репарационную систему клетки. Поскольку согласно гипотезе Бреслера [436] повреждения в клетке возникают не в результате того, что система репарации не справляется с полным объемом поражения, а из-за нарушения координации отдельных, этапов репарационных процессов, то более эффективная работа этой системы при действии каких-либо факторов объясняется не „стимуляцией", а коррекцией ее деятельности. В свете этой гипотезы защита системы восстановления от повреждающего действия облучения органически вписывается в общую картину физико-химических и биологических реакций, происходящих под действием протектора в облученной клетке.

В некоторых работах встречаются высказывания, что радиопротекторы, защищающие организм от лучевой гибели, должны обладать способностью уменьшать и мутагенное действие облучения (причем вывод делается на основании изучения лишь хромосомных аберраций в соматических клетках). Существует мнение, что поскольку индукция хромосомных перестроек в клетках тела отражает общую картину лучевого поражения организма и может служить биологическим „дозиметром", постольку механизмы физиологических и генетических повреждений едины и, следовательно, едиными должны быть и средства защиты от них.

Однако это далеко не так. Изменения, происходящие на уровне целого организма, могут не оказывать влияния на хромосомы и ДНК (особенно половых клеток). Соответственно и радиопротекторы, уменьшающие смертность облученных животных, могут не влиять на частоту индуцированных облучением мутаций. Более того, даже разные типы мутаций модифицируются поразному, особенно если сравнить точковые мутации, представляющие собой изменения на уровне ДНК, и хромосомные перестройки, связанные с повреждением белковых структур (см. гл. 1). Возможность модификации мутационного процесса различна на разных этапах радиобиологических процессов, развивающихся в облученной клетке. Эти процессы разделяются на четыре стадии:

1) физическая – в клетке возникают возбужденные и ионизированные молекулы, неравномерно распределенные в пространстве. Эти события происходят в первые 10^{-16}-10^{-13}с;

2) физико-химическая длится 10^{-13}-10^{-10} с и состоит из реакций, приводящих к перераспределению возбужденными молекулами избыточной энергии. На этой стадии образуются ионы и радикалы;

3) химическая – ионы и радикалы взаимодействуют друг с другом и окружающими молекулами, формируя различные структурные повреждения. Это могут быть разрушения нуклеотидов в молекуле ДНК, образование разрывов в ДНК и хроматине, изменение конформации исходных молекул и т. д. По мнению одних авторов [416], эта стадия длится 10^{-6}-10^{-3} с, других [437] – от 10^{-14} с до долей минуты.

Модификация азотистых оснований в ДНК и образование сшивок протекают за время от долей секунды до долей минуты, регистрируются при облучении клетки и могут быть причиной генных мутаций [438];

4) биохимическая – работа репарирующих систем клетки сводится к ликвидации перечисленных последствий облучения за время от долей минуты до нескольких суток [437].

Отсюда возможны два пути модификации мутагенного действия облучения:

1) снижение первичного поражения генетического материала – физико-химический уровень;

2) влияние на процессы формирования мутаций путем воздействия на репарационные системы в клетке – биохимический уровень.

Второй способ осуществляется легче, хотя бы потому, что четвертая стадия длится гораздо дольше, чем три первые. Поэтому факторы, влияющие на репаративные процессы в клетке, способны модифицировать мутационный процесс и после облучения. Кроме того, очевидно, не обязательно проникновение вещества в клетку [439, 440]. Однако воздействия на метаболизм клетки, в том числе и на восстановительные процессы, эффективно изменяют выход лишь хромосомных перестроек, а индукция точковых мутаций при этом почти не модифицируется. Более радикальным является первый путь – экранирование ДНК или уменьшение числа первичных изменений ДНК. В этом случае модифицируется индукция всех типов повреждений, в том числе и точковых мутаций. Но осуществить этот процесс гораздо труднее. Для такой защиты протектор должен присутствовать в клетке во время облучения, т. е. быть введенным до облучения. Кроме того, должна быть достигнута достаточно высокая концентрация протектора в непосредственной близости от защищаемых молекул. Необходимо также, чтобы потенциал ионизации или энергия возбуждения молекул протектора были ниже, чем потенциал ионизации и энергия, возбуждения молекул субстрата, или чтобы протектор обладал антирадикальной активностью. Причем защитный эффект химического соединения определяется не только фактором поглощения, но и дальнейшей судьбой поглощенной энергии. Энергия, поглощенная молекулой, может реализоваться тремя путями: а) переходом в энергию химических процессов; б) высвечиванием (процессы люминесценции) и в) превращением в тепловую энергию. Для протектора наиболее желателен последний путь преобразования энергии.

Процессы, связанные с внутримолекулярной компенсацией потерянных электронов или с передачей неспаренного электрона от уникальной макромолекулы другому соединению-акцептору электронов, иногда называют физико-химической репарацией [1, 441, 442] в отличие от ферментативной репарации, а химические вещества, защищающие облученные клетки по этому принципу, – „ловушками энергии" [443]. Таким путем можно защищать и саму репарационную систему от разрушающего действия облучения.

Механизмы радиозащитного действия меланина

Биологическая роль фенолов в организме растений и животных, а также механизмы их биологического действия описаны в ряде монографий [97, 272, 454-456]. Рассмотрим те из них, которые могут объяснить способность меланина уменьшать мутагенное действие облучения.

Известно, что содержание фенольных соединений у горных растений выше, чем у растений, произрастающих в долине [457], и по сравнению с последними они обладают большей радиоустойчивостью [458, 459]. Например, при облучении в дозе 6 кР семян пленчатого ярового ячменя из низменной и горной репродукции частота хромосомных аберраций у первых возросла в 10 раз, тогда как у вторых она оставалась на уровне контроля [459]. На существование прямой связи между радиоустойчивостью и содержанием фенольных соединений в пределах одного и того же вида растений указывается и в работе [458]. Высокое содержание фенольных и токоферольных соединений у горных растений можно расценивать как ответную реакцию растительного организма на постоянное воздействие космических лучей и высокой радиоактивности горных пород. У горных растений отмечено также повышенное содержание аскорбиновой кислоты [460].

Была выдвинута и экспериментально проверена гипотеза о возможном участии аутоантимутагенной системы в регуляции темпов мутирования природных популяций [461, 462]. Очевидно, что фенолы и витамины в этой системе взаимосвязаны: 1) практически во всех растительных источниках фенольные соединения содержатся наряду с аскорбиновой кислотой; 2) в тканях растений, растительных продуктах и в модельных растворах они взаимозащищают друг друга от окисления; 3) показан синергизм их биологических эффектов, как в растительных, так и в животных тканях [266].

На участках, загрязненных радионуклидами ^{90}Sr, в популяциях тысячелистника обнаружено увеличение числа интенсивно окрашенных форм [463]. Предполагается, что такие пигментированные формы более радиоустойчивы и поэтому в условиях хронического облучения отбор идет в их пользу. Интересно, что на этих же участках наблюдалось и повышенное количество пигментных мутаций у хлореллы [464].

Таким образом, можно сделать вывод, что фенольные соединения, и в частности меланин, созданы самой природой для защиты организма от облучения.

Основной отличительной чертой меланина является его полимерная структура, которая обеспечивает не только поглощение солнечного света в наиболее активной УФ области, но и улавливание, стабилизацию и обезвреживание возникающих при этом свободных радикалов. Этот процесс протекает в коже животных и человека, где присутствие и новообразование меланина представляет собой защитную реакцию организма на действие солнечного излучения, особенно ультрафиолетовой его части. Сложная сетчатая структура молекул меланина делает их идеальными „молекулярными ситами", в ячейках которых и застревают активные осколки молекул, радикалы и другие продукты фотолиза [97].

При облучении смеси меланина и яичного альбумина установлено, что пигмент принимает электроны от облученного белка [465]. Адсорбционный спектр смеси этих веществ свидетельствует о том, что интенсивность (высота) сигнала определяется меланиновым пигментом, а его ширина – присутствием альбумина. После облучения наблюдалось уменьшение меланиновой части спектра, что свидетельствует о его переходе в восстановленное состояние за счет адсорбции электронов с облученного белка. Аналогичные данные получены при введении меланина растительного происхождения в неокрашенную кожуру семян белой горчицы. Было зарегистрировано появление характерного сигнала ЭПР, который тоже уменьшался после облучения [466].

Ионизирующая радиация наряду с ультрафиолетовым излучением является причиной возникновения свободных радикалов, в том числе и в биологических системах. Способность меланина улавливать, стабилизировать и инактивировать возникающие при этом свободные радикалы является одним из основных механизмов его радиозащитного действия. В работе [467] показано существование корреляции между содержанием меланина и концентрацией парамагнитных частиц в клетке и предположено, что защитные свойства меланина обусловлены его полимерной структурой и способностью накапливать в полимерных ячейках большое количество неспаренных электронов – ПЦ.

После γ – облучения в дозах 300-600 Гр образцов белой бараньей шерсти, а также белой шерсти с добавлением меланиновых гранул, выделенных из чернил осьминога, и коричневой шерсти наблюдалось соответствующее увеличение количества ПЦ во всех вариантах опыта [468]. Увеличение дозы облучения от 600 до 1000 Гр не влияло на количество образования ПЦ. Характерно, что через 30 мин после облучения количество свободных радикалов в белой шерсти увеличивалось в 12-15, а иногда в 40 раз; в белой шерсти с добавлением меланина – в 3-3,5 раза и в коричневой – в 1,2-2,2 раза. Авторы предполагают, что в меланиновых гранулах происходили захват и рекомбинация индуцированных ионизирующими излучениями радикалов и мигрирующих возбужденных состояний.

Подробное исследование механизмов радиозащитного действия меланина у грибов проведено в работе [469]. Об участии меланиновых пигментов в радиоустойчивости исследованных грибов судили по существованию прямой корреляционной зависимости этого признака от концентрации ПЦ меланина. Эта зависимость наблюдалась при сравнении таксономически различных тем-

нопигментированных гифомицетов, штаммов C. clados porioides и его цветных мутантов, радиоустойчивость и концентрация ПЦ которых уменьшались с уменьшением их пигментации, а также при сравнении радиоустойчивости конидий C. clados porioides разного возраста с накоплением пигмента в клеточных стенках.

Исследовались также процессы пострадиационного восстановления у мутантов грибов с разным содержанием пигмента. Показано, что характер и уровень пострадиационного восстановления мутантов были сходными [469]. Соответствующие кривые восстановления были идентичны между собой по характеру, выходу кривой восстановления на плато и максимально достигнутому уровню выживаемости после одноразового и фракционированного облучения. Таким образом, конидии изученных штаммов грибов оказались в одинаковой мере способными к восстановлению от радиационных поражений, однако эти культуры существенно различались радиоустойчивостью и концентрацией ПЦ их меланиновых пигментов. Это обстоятельство служит подтверждением гипотезы электронно-акцепторного механизма защитного действия меланинового пигмента, впервые высказанной в работе [470] и впоследствии расширенной в [471] и др.

Согласно этой гипотезе защитное действие меланина связывается с адсорбцией образовавшихся в клетке вторичных электронов, что сопровождается уменьшением сигнала ЭПР, т. е. чем выше у пигмента способность к восстановлению, тем эффективнее защита от ионизирующих излучений.

Меланин является, в сущности, стабильным свободным радикалом, так как в ячейках его сетчатой структуры фиксированы и длительно сохраняются свободнорадикальные группировки [272]. Обладая свойствами стабильного свободного радикала, меланин способен вступать в реакции образования комплекса с переносом заряда и играет при этом роль акцептора электронов. Ряд авторов [472-474] полагают, что именно эти свойства объясняют низкую чувствительность самого меланина к воздействию ионизирующей радиации. По мнению авторов работы [475], такие реакции могут служить механизмом защиты клеток от свободных радикалов, возникающих под действием излучения.

Показано, что меланин создает буферную систему для избыточной энергии клеток, распределяя ее малыми дозами. Квант энергии, попадая на молекулу мишени, мигрирует по ней, а затем утилизируется молекулой меланина. Поскольку промежуточные метаболиты меланинового обмена благодаря свободнорадикальному состоянию могут окисляться и восстанавливаться, образующиеся бесконечные молекулы меланина срабатывают как электронно-обменный полимер, который, приняв на себя радиационный удар, распыляет его по всей молекуле, перераспределяя ее электронный заряд (одновременно этот полимер является и донором электронов для других систем) [331].

Благодаря наличию гидроксильных групп и особенностям электронной структуры бензольного кольца фенолы имеют склонность к легкой отдаче электронов. Они могут легко и обратимо окисляться, отдавая электроны и ядра водорода и выступая тем самым в роли восстановителей, антиоксидантов. Фенольное соединение постепенно расходует свои электроны и протоны, превра-

щаясь в хинон и защищая от окисления соседнее вещество [272]. И только после того, как ресурсы фенола исчерпаны, начинается окисление соседних молекул.

В работах [476, 477] исследован механизм радиозащитного действия пигментов антоцианов, которые можно считать аналогами меланинов в силу того, что они образуются в растениях под действием УФ излучения (своеобразный „загар" растений) и так же, как меланины, служат для защиты растительных клеток от облучения. Показано, что антоцианы могут существовать в окисленной и восстановленной, формах и выполнять функцию переносчиков водорода в окислительно-восстановительных реакциях, влияя на ход мутагенеза.

В тканях животных при γ – облучении накапливаются вещества полифенольнохиноидной природы, которые способны восстанавливать цитохром С [478]. Причем такой способностью обладает как необлученный, так и γ – облученный 3-4-диокси-фенилаланин (ДОФА).

Интересно, что синтез меланина в клетке стимулируется цАМФ [479], а ведь именно аденил-циклазной системе, по гипотезе Лангендорффов [422], принадлежит ведущая роль в осуществлении радиозащитного действия химических веществ.

Согласно этой гипотезе механизм действия радиопротекторов самой различной химической природы сводится к стимулированию реакций, повышающих в клетке уровень цАМФ, которым обычно отводится роль регуляторов метаболических процессов. И если цАМФ запускает синтез меланина, то, очевидно, меланин является одним из необходимых звеньев радиозащитной системы клеток.

Подробное исследование механизмов радиопротекторного действия фенолов позволило сделать неожиданные выводы [272]: в условиях организма действуют не фенолы сами по себе, а окислительно-восстановительная система фенол – семихинон – хинон, компоненты которой постоянно переходят друг в друга.

Действительно, синтез меланина в клетке идет через образование ряда сильно реактивных промежуточных продуктов. Начинается он с окисления тирозина в ДОФА и затем в ДОФА-хинон. Через ряд последовательных этапов образуется индол-5,6-хинон, который, полимеризуясь и, присоединяя молекулу белка, превращается в меланин [475]. Под влиянием ионизирующей, радиации в организме резко усиливаются окислительные процессы. Нейтрализуют свободнорадикальные реакции окисления не только нейтральные молекулы фенола, но и семихинонные радикалы. При этом вместо двух радикалов, взаимно нейтрализующих друг друга, возникает нейтральная молекула – продукт сшивки радикала с фенолом. Семихинонных радикалов несравненно меньше, чем исходных молекул восстановленного фенола, но они химически более реактивны и по мере расходования возникают вновь за счет реакции между фенолом и соответствующим хиноном. Согласно „семихинонной гипотезе" Барабоя радиозащитные свойства – это свойства не фенолов или хинона, а промежуточного нестойкого продукта, возникающего при переходе их друг в друга [272].

Показано, что фенолы эффективно взаимодействуют с азотистыми основаниями ДНК и РНК [272,290], поэтому в качестве одного из механизмов генетического эффекта фенольных соединений предполагается их взаимодействие с функциональными группами ДНК, которое может или экранировать важные участки ДНК от действия мутагена, или отводить избыточную энергию [292]. В обоих случаях предотвращается образование мутаций на самых ранних этапах, что может объяснить снижение под действием меланина выхода точковых мутаций.

В то же время фенольные соединения способны образовывать непрочные временные связи с тиоловыми группами белков, защищая их от необратимой окислительной инактивации в условиях лучевого воздействия. В тканях человека, например, более двух десятков ферментных систем содержат тиоловые группы.

Многогранность биологической активности фенолов позволяет предположить их влияние (возможно, опосредованное) и на репарационные процессы в клетке. Одним из методов проверки этого предположения является изучение способности фенолов (в частности, меланина) снижать мутагенное действие химических веществ. Такое исследование было нами проведено на мышах.

Экспериментальное изучение механизмов антимутагенного действия меланина

При исследовании резистентности популяций дрозофилы к химическому мутагену ЭМС нами обнаружено, что популяции М и МО, получавшие с пищей меланин, намного чувствительнее к этому мутагену, чем к облучению. Возникло предположение, что меланин не только препятствует адаптации популяций к повреждающим факторам, но и сам по себе, как и индены, не защищает дрозофил от химических мутагенов. Поэтому исследование влияния меланина на мутагенный эффект ЭМС было предпринято для того, чтобы: 1) объяснить более высокую чувствительность популяций дрозофилы М и МО к химическому мутагену, чем к облучению; 2) проверить возможную связь радиозащитного действия меланина с его способностью влиять на репарационные процессы в клетке.

Конечно, это исследование не могло бы дать окончательный ответ на вопрос, опосредована ли антимутагенная активность меланина через системы репарации, но если бы оказалось, что меланин защищает наследственные структуры от мутагенного эффекта ЭМС, то, безусловно, пришлось бы отказаться от объяснения протекторного действия меланина отводом энергии с облученной ДНК и признать возможным его участие в стимуляции репарационных систем.

Исследование проведено на мышах линии СЗН в возрасте 2-2,5 мес. ЭМС, растворенный в дистиллированной воде, инъецировали самцам в концентрации 240 мг/кг. Меланин вводили в дозе 50 мг/кг за 30 мин до воздействия ЭМС.

Одновременно для сравнения проверяли влияние меланина на генетический эффект облучения. Самцов той же линии и того же возраста облучали рентгеновским излучением в дозе 0,08 Кл/кг (мощность дозы $1{,}3\text{-}10^{-4}$ А/кг), меланин в той же концентрации инъецировали за 30 мин до облучения.

Исследовали частоту реципрокных транслокаций, возникших под действием облучения или ЭМС в сперматоцитах животных (табл. 9.2). Как видно из таблицы, меланин достоверно (P = 0,99) снижает выход перестроек, индуцированных рентгеновским излучением (с 3,3 ± 0,2 до 1,8 + 0,2%), но практически не изменяет частоту аберраций, вызванных ЭМС.

Если бы меланин стимулировал функционирование репарационных систем, то, вероятнее всего, он защищал бы наследственные структуры от воздействия не только облучения, но и химических мутагенов, как это имеет место для большинства радиопротекторов. Отсутствие защитного влияния меланина на генетический эффект ЭМС позволяет усомниться в его способности влиять на процессы репарации в клетке.

Полученные данные позволяют объяснить повышенную чувствительность популяций дрозофилы, обрабатываемых на протяжении многих поколений меланином, к мутагенному действию ЭМС по сравнению с контрольными и облучавшимися популяциями: меланин, защищая популяции от радиационных воздействий, а возможно, и от резких температурных колебаний, голода и т. п., способствует сохранению и размножению в популяциях менее жизнеспособных, менее устойчивых особей. Поэтому популяции М менее резистентны к воздействию ЭМС, чем контрольные, а популяции МО – менее резистентны, чем облучавшиеся. В то же время популяции МО более устойчивы, чем популяции М, так как популяции МО все же подвергались постоянному облучению и некоторый отбор резистентных генотипов в них шел, поскольку меланин лишь частично защищает популяции от облучения.

По той же причине популяции М и МО более чувствительны к воздействию ЭМС, чем к дополнительному облучению: несмотря на более слабую адаптацию этих популяций к повреждающим факторам, меланин частично защищает их от дополнительного облучения, но не защищает от воздействия химического мутагена.

Рассмотренные механизмы радиозащитного действия меланина позволяют объяснить снижение мутационного процесса, показанное в наших опытах на дрозофиле и мышах, на организменном и популяционном уровнях. Однако как объяснить повышение плодовитости и жизнеспособности особей в необлученных популяциях? В литературе имеются сведения о том, что вследствие нарушения процессов меланинообразования снижаются жизнеспособность, плодовитость и некоторые другие хозяйственно ценные качества животных [331]. Отмечается также, что фенолы, имеющие стероидную форму, обладают свойствами эстрогенных гормонов и оказывают влияние на рост и размножение животных [455]. Широкий диапазон проявления активности фенолов и их функциональная взаимосвязь с аскорбиновой кислотой свидетельствуют о непосредственном участии этих соединений в процессах обмена веществ, причем многие биологические эффекты фенолов (например, витаминов Р) обусловлены стаби-

лизацией аскорбиновой кислоты, ее защитой от окисления [455]. На „витаминное действие" фенолов, повышающее сопротивляемость организма до какого-то оптимального уровня, указывается в работе [272]. Отмечено также участие меланиновых пигментов в приспособляемости, клеточной и эмбриональной дифференцировке, гормональной индукции, механике развития и т. д. [331]. В ряде работ подчеркиваются синергизм и функциональная взаимосвязь витаминов Р (фенолов) и С [455, 480]. Это указывает на важную биологическую роль фенолов в организме и на многогранность их эффектов, к наиболее важным из них автор работы [272] относит воздействие фенолов на нуклеиновые кислоты и функции генетического аппарата.

Подытоживая обсуждение механизмов действия меланина, следует подчеркнуть его высокую электронно-донорную и антиоксидантную активность, его связь с цАМФ и способность защищать от инактивации тиольные группы ферментов, что свидетельствует о важном месте меланина в радиозащитной системе клетки.

Кроме того, меланин влияет на плодовитость и жизнеспособность животных, обмен веществ, гормональную регуляцию и клеточную дифференцировку, чем и объясняется широкое распространение меланиновых пигментов в органическом мире.

Интересно, что меланиновые пигменты грибов участвуют в адсорбции ионов тяжелых металлов [481-483]. Биологическая ценность этого явления несомненна. Связывая ионы тяжелых металлов на поверхности клеточной стенки, меланин тем самым не допускает их проникновения внутрь клетки. Установлено, что 1 г сухой биомассы гриба Rhizopus arrhizus адсорбирует 180 и 160 мг урана и тория соответственно [484, 485].

Таблица 9.2. **Влияние меланина на выход реципрокных транслокаций, индуцированных рентгеновским излучением и ЭМС в сперматоцитах мышей**

Способ воздействия	Число		Транслокации			
	семенников	метафаз	число	%		t
ЭМС	6	716	39	5,56	0,35	
Меланин + ЭМС	6	833	39	4,71	0,14	
Облучение	6	969	31	3,27	0,22	
Меланин + облучение	8	1378	24	1,83	0,21	4,7

При исследовании 151 штамма Pyrenophora avenae была установлена прямая зависимость между степенью пигментации этих грибов и их устойчивостью к повышенным концентрациям ионов ртути [486].

Механизмам адсорбции ионов тория и урана биомассой гриба Rhizopus arrhizus посвящены работы [487-489]. Детальное изучение процесса позволило предположить, а затем в эксперименте подтвердить многоступенчатость процесса адсорбции Th^{2+}. Этот процесс происходит в два этапа: а) адсорбция ионов

на хитине с образованием комплекса между металлом и NH-радикалами клеточного хитина и б) образование гидролизатов тория и осаждение их на внешнюю часть грибной клеточной стенки. При этом если свободные радикалы 1 г хитина могут связывать только 8 мг тория, то количество гидролизаторов составляет 160 мг, обеспечивая 95 % адсорбции металла на грибную биомассу.

Такая же многоступенчатость обнаружена при взаимодействии биомассы этого гриба с ионами урана.

Подробный анализ роли меланиновых пигментов в экстремальных условиях жизни проведен в работе [469]. Биологические функции меланиновых пигментов животного и грибного происхождения, эволюционно удаленных друг от друга, реализуются у грибов и высокоорганизованных животных практически в одинаковой степени, несмотря на разную химическую структуру меланинов (табл. 9.3). По мнению авторов, это обстоятельство может свидетельствовать о древнейшем происхождении меланина и высокой стабильности не только химической структуры пигмента, но и его биологической функции [469].

В ряде работ показано, что на участках, загрязненных радионуклидами, наблюдается увеличение числа интенсивно пигментированных форм в популяциях низших и высших растений [463, 464]. Установлено, что по мере развития индустриализации возрастает доля черных доминантных форм в популяциях насекомых, обитающих в крупных городах [488]. Это явление получило название „индустриальный меланизм”, которое употребляется в случае преимущественного распространения темноокрашенных особей животного и грибного царства в сильно загрязненных промышленными отходами регионах. В качестве одного из первых примеров такого рода следует упомянуть преимущественное распространение темноокрашенных божьих коровок Adalia bipunctata в районе Бирмингема, березовых пядениц в промышленных районах Англии [489, 490]. Так как количество пигментированных форм божьих коровок возрастало с увеличением содержания смога в воздухе, Грид [490] предположил, что меланин, находящийся в кутикуле насекомого, вступает в реакцию с компонентами смога, защищая тем самым организм от токсических веществ, находящихся в промышленной пыли. Возрастание доли черных доминантных форм в популяциях божьих коровок наблюдается и в крупных промышленных городах Советского Союза [488].

Распространение „индустриального меланизма”, по мнению Берри [379], может быть мерой биологического эффекта загрязнения воздуха.

Способность экзогенного меланина снижать генетический эффект об лучения у животных на организменном и популяционном уровнях свидетельствует о важной роли этого пигмента.

Тот факт, что антимутаген (в частности, меланин) препятствует адаптации популяций к повреждающим факторам, является хорошим доказательством его защитного действия. Использование меланина в популяциях дрозофилы можно сравнить с применением медицины у человека – в обоих случаях резко снижается роль естественного отбора, что позволяет выживать и оставлять потомство менее жизнеспособным особям. Однако ни у кого не возникает сомне-

ний в целесообразности использования медицинских мероприятий, и это абсолютно справедливо. Необходимо защищать популяции живых организмов от вредных воздействий, а не ждать, пока они адаптируются к этим неблагоприятным факторам. В тех случаях, когда такая адаптация возможна, она возникает через десятки поколений и сопровождается гибелью большого количества особей. Поэтому показанная на примере меланина способность антимутагенов благоприятно влиять на приспособленность и мутационный процесс в популяциях представляет несомненный интерес.

Сравнение биологических функций животных и грибных меланиновых пигментов

Животные меланины – гетерогенные биополимеры на основе 5,6-индолхинона	*Грибные меланины – гетерогенные биополимеры полипептидной природы*
Участвуют в защите кожных покровов от излишнего светового и УФ излучения, в функционировании органов слуха, зрения, некоторых отделов головного мозга за счет трансформации фотонов и фононов (звук), электронов по одноквантовому механизму	*Участвуют в УФ- и светоустойчивости, выживаемости при продолжительном голодании грибов, усвоении углерода из $C0_2$ воздуха и $NaHCO_3$. Пигмент сорбирует фотоны по одноквантовому механизму в диапазоне 200—900 нм. Предложен механизм взаимодействия пигмента со световыми квантами*
Участвуют в устойчивости организмов к ионизирующему излучению, осуществляют ковалентную модификацию, хранение и реализацию клеточной энергии за счет донорно-акцепторных свойств меланина	*Участвуют в устойчивости грибов к ионизирующему излучению, повышенной сухости воздуха и субстрата, недостатку кислорода в окружающей среде за счет донорно-акцепторных свойств пигмента*
Связывают разнообразные вещества ароматической природы, ионы тяжелых металлов, радиоактивные элементы, что предполагает возможную регуляцию пигментом активности ряда ферментов и пептидов за счет ионообменных свойств пигмента	*Сорбируют ионы Pb^{2+}, Th^{4+}, La^{2+}, Zn^{2+}, Cr^{6+}, Hg^{2+}, Cu^{2+}. Являются сильными антиоксидантами и связывают нестабильные состояния, синглетный кислород, коротко живущие радикалы*
Пигмент исключительно стабилен in vivo и in vitro, в естественных условиях лизису практически не поддается	*Пигмент практически не лизируется при длительном культивировании в лабораторных условиях. Участвует в процессах гумусообразования*

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

Облучение семян и растений с целью получения новых сортов

Практически сразу же после открытия мутагенного действия ионизирующих излучений они стали использоваться для получения новых форм живых организмов. Но как метод получения новых сортов, обладающих ценными хозяйственно полезными признаками, радиационный мутагенез получил наиболее широкое распространение именно в селекции растений.

Процесс получения нового сорта с применением ионизирующих излучений включает два этапа: использование излучения для получения максимального количества мутантных форм как исходного материала для селекции и на основе полученных мутантов выведение с помощью, общепринятых приемов и методов нового сорта, его испытание, размножение и внедрение в производство.

Специфическим этапом, имеющим отношение к радиобиологии, является первый. Он состоит в подборе доз облучения для семян, вегетативных органов, генеративных органов, вегетирующих растений, индуцирующих возникновение максимального количества новых форм растений, и собственно массового облучения материала.

Количество возникающих под влиянием ионизирующих излучений любых видов мутаций, как отмечалось в главе 3, прямо пропорциональны дозе облучения. Но выживаемость растений и способность их дать семена для размножения обратно пропорциональна дозе (рис. 48). Поэтому следует использовать такие дозы, при которых оказывается достаточно высоким выход мутантных форм и выживает достаточное для размножения количество растений. Такой дозой обычно считают $ЛД_{70}$, когда выживает около 30 % растений, часть которых способна дать семена. Известный шведский генетик и радиобиолог А. Густафссон назвал ее «критической, дозой».

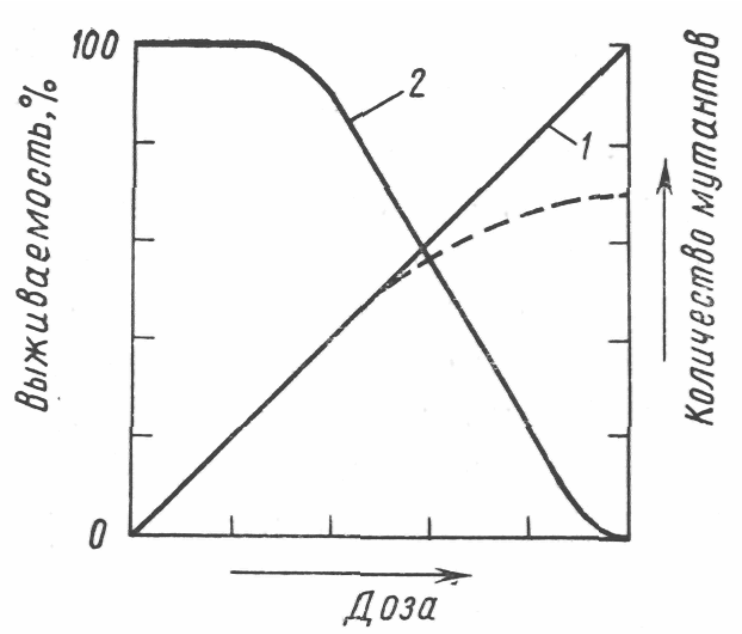


Рис. 48. Зависимость выхода мутантов (1) и выживаемости растений (2) от дозы ионизирующей радиации

Советский радиобиолог Е. И. Преображенская проделала огромный труд, обобщив собственный и имеющийся в литературе материал по радиоустойчивости семян растений 63 семейств, 262 родов, 508 видов и 218 внутривидовых форм (подвидов, разновидностей, сортов) в книге «Радиоустойчивость семян растений» (1971), которая до настоящего времени остается одним из основных ориентиров для исследователей в области селекции, решивших применить ионизирующие излучения в своей работе. В таблице 30 приведены значения критических доз гамма- или рентгеновского излучений для семян некоторых видов сельскохозяйственных растений, а в таблице 31 – для семян некоторых видов древесных и кустарниковых плодовых культур и лесообразующих пород. В целом $ЛД_{70}$ отражает общий уровень радиочувствительности растений и при подборе доз в селекционной работе можно пользоваться промежуточными значениями $ЛД_{50}$ (полулетальная доза) и $ЛД_{100}$ (летальная доза) (табл. 9), также взятой из книги Е. И. Преображенской.

Существует, однако, точка зрения, состоящая в том, что при облучении растений редкоионизирующей радиацией, т. е. излучениями с малой плотностью ионизации, к которым относятся гамма- и рентгеновские излучения, наиболее часто применяемые в радиационной селекции и генетике, возрастание числа мутаций прямо пропорционально дозе происходит лишь до определенного уровня. В последующем может иметь место некоторое их снижение, происходящее, по-видимому, вследствие гибели клеток, несущих кроме жизнеспособных мутаций также летальные аберрации хромосом. При этом клетки и, соответственно, растения, могут погибать, не реализовав потенциальных возможностей мутаций. На рис. 48 эта ситуация отражена вторым вариантом кривой *1*.

Таблица 30

Критические дозы ($ЛД_{70}$) гамма- или рентгеновского излучений для семян некоторых видов сельскохозяйственных растений (по Е. И. Преображенской, 1971)

Род и вид	Доза, Гр	Род и вид	Доза, Гр
Бобы конские	50—125	Просо посевное	300—400
Брюква кормовая	2500	Пшеница мягкая	150—250
Горох посевной	75—250	Пшеница твердая	200
Горчица белая	1000—2000	Рапс посевной	1000—1500
Гречиха посевная	250	Редис посевной	1000—2500
Донник белый	1250	Редька обыкновенная	1500—2000
Дыня посевная	200	Репа культурная	1000—1200
Капуста кочанная	800—1000	Рис посевной	300
Картофель культурный	250—500	Рожь посевная	100—200
Клевер красный	2000	Салат посевной	100—200
Клещевина персидская	1000	Сорго обыкновенное	300
Конопля посевная	300	Соя щетинистая	75—200
Кресс-салат	1500	Тимофеевка луговая	100
Кукуруза, маис	100—200	Томат съедобный	200
Лен обыкновенный	400—1000	Турнепс кормовой	700—1500
Лук репчатый	100—150	Укроп пахучий	350
Люпин белый	500	Фасоль золотистая (маш)	300
Люпин узколистный	400—600	Фасоль обыкновенная	100—200
Люцерна посевная	1000—1500	Чечевица пищевая	120—250
Морковь посевная	800	Чина посевная	200—500
Нут бараний	250—500	Шпинат огородный	200
Овес посевной	150—300	Эспарцет виколистный	1250
Огурец посевной	500	Ячмень культурный	200—350

Кроме того, возникновение многих интересных мутаций, ответственных за проявление хозяйственно полезных признаков, при облучении в больших дозах часто сопровождается стерильностью семян. Поэтому некоторые исследователи склоняются к мнению о том, что для получения наибольшего числа жизнеспособных мутаций необходимо облучать семена в лозах ниже уровня критических, которые не приводят к гибели большинства растений и не вызывают значительных нарушений в их росте и развитии.

В данной ситуации весьма эффективным может оказаться упоминавшийся в главе 5 прием использования противолучевых и радиосенсибилизирующих соединений, по-разному влияющих на соматическое и генетическое повреждe-

ния. В частности, радиопротекторы, оказывающие преимущественно соматическое действие, позволяют повышать уровень переносимых доз, обеспечивая тем самым увеличение выхода мутаций при сохранении жизнеспособности у достаточного количества семян. Радиосенсибилизаторы, напротив, могут усиливать радиационное поражение генетического компонента.

Таблица 31

Критические дозы ($ЛД_{70}$) гамма- или рентгеновского излучений для семян некоторых видов культурных и дикорастущих древесных растений (по Е. И. Преображенской, 1971)

Род и вид	Доза, Гр	Род и вид	Доза, Гр
Плодовые культуры и виноград			
Айва продолговатая	100	Облепиха крушиновидная	200
Виноград культурный	150—200	Персик обыкновенный	60—150
Вишня песчаная	75	Рябина обыкновенная	100
Гранат обыкновенный	100	Слива домашняя	60—150
Груша обыкновенная	50	Смородина золотистая	200
Крыжовник отклоненный	50	Смородина черная	50
Лимон обыкновенный	200—300	Шелковица белая	100—200
Миндаль обыкновенный	60—150	Яблоня домашняя	40—100
Древесные и кустарниковые породы			
Береза бородавчатая	50—100	Лавр благородный	30
Боярышник кроваво-красный	120	Липа сердцевидная	150
Гледичия обыкновенная	200	Лиственница сибирская	10—50
Дуб черешчатый	50	Ольха клейкая	50
Ель обыкновенная	5—10	Орех черный	60—150
Ель сибирская	50—100	Осокорь черный	200
Жасмин настоящий	100	Пихта сибирская	15
Жимолость обыкновенная	200	Сосна обыкновенная	15—50
Каштан конский	150	Спирея средняя	100
Кедр сибирский	10—50	Тополь вирджинский	300
Кипарис вечнозеленый	50	Шиповник коричный	100
Клен ясенелистный	200	Ясень высокий	450

Для целей радиационного мутагенеза применяются и другие типы ионизирующих излучений, как, например, плотноионизирующие быстрые и тепловые нейтроны. Для разных видов растений относительная биологическая эффективность (ОБЭ) нейтронов колеблется в пределах 3— 10 (см. табл. 4), хотя и

может достигать 20. Считается, что нейтроны избирательно действуют на геном клетки и гораздо слабее затрагивают аппарат деления и цитоплазму. Во всяком случае, их эффекты в меньшей степени, чем редкоионизирующих излучений, сопровождаются нарушением обмена веществ, и они меньше влияют на выживаемость растений при одном и том же количестве индуцированных мутаций. Облучение нейтронами вызывает большее число мутаций на «единицу выживаемости». Поэтому рост числа мутаций при облучении нейтронами происходит до большего, порой в несколько раз, предела выживаемости растений, чем при облучении редкоионизирующей радиацией.

К сожалению, технические возможности не позволяют пока достаточно широко использовать источники нейтронов в биологических целях, в том числе и для нейтронного радиационного мутагенеза. Но многие специалисты считают, что им принадлежит будущее в радиационной генетике и селекции. Не случайно Нидерланды, единственная страна, располагающая специальным биологическим ядерным реактором для сельскохозяйственных целей, в течение пяти лет перешла с одного из последних на третье место в мире по количеству сортов культурных растений, полученных с помощью метода радиационного мутагенеза.

Говоря о мутациях под влиянием ионизирующих излучений, следует подчеркнуть, что радиация не индуцирует появления новых типов мутаций по сравнению с возникающими при естественном мутационном процессе. Она лишь увеличивает их количество, что облегчает работу селекционеров, предоставляя им больше вариантов для отбора: Но при увеличении частоты появления различных типов мутаций возрастает вероятность выявления некоторых из них, чрезвычайно редко появляющихся в норме, что также может повышать эффективность селекционно-генетической работы. Неоднократно описывались случаи якобы возникавших при облучении или действии каких-либо других мутагенных воздействий совершенно новых мутаций. Но впоследствии, как правило, оказывалось, что селекционер сталкивался с такой редкой формой. Спектр мутаций – соотношение между различными их типами – также не отличается от обычного. Хотя за счет выявления редких мутаций он может претерпевать некоторые изменения.

Без сомнения, семена представляют собой идеальный объект для облучения, как для целей стимуляции роста и развития растений, так и радиационной селекции. Возможность использования практически неограниченного числа особей с одинаковыми генетическими характеристиками, относительная индифферентность к условиям окружающей среды, высокая технологичность при облучении, способность сохранять эффект облучения в течение долгого времени, соизмеримого со временем сохранения их всхожести, при решении многих задач делают их совершенно незаменимыми.

Однако в последние годы все чаще появляются данные о том, что при облучении вегетирующих растений в различные фазы развития может происходить значительное возрастание мутагенного эффекта, при котором удается выявлять редкие мутации, представляющие интерес для селекционной работы. И в этом нет ничего удивительного, так как при прорастании семян и последующем

развитии растений в соответствии с последовательным прохождением отдельных этапов онтогенеза происходит развертывание генетической программы, контролирующей отдельные процессы метаболизма, состоящей в постоянной смене дерепрессии и репрессии отдельных участков генов. В этих условиях вполне можно ожидать различных реакций генома на любое воздействие, в том числе и на облучение. Отмеченное в главе 4 изменение радиоустойчивости растений в зависимости от фазы развития – свидетельство этому.

Исследования, проведенные в нашей стране, в Чехословакии, Польше, США, Швеции и других странах, не позволяют однозначно выделить фазы развития растений, в которые наблюдается наибольшее количество мутаций. По данным одних исследователей, наиболее благоприятной в этом отношении является фаза кущения, других – колошения, третьих —бутонизации, четвертых – цветения. Именно при облучении в эти фазы у различных культур удавалось наблюдать максимальный выход различных типов мутаций.

Интересные исследования были проведены чехословацким генетиком И. Черни (1972). Он изучал влияние гамма-радиации на частоту возникновения специфической генной мутации Su при облучении отцовских растений кукурузы в различные фазы развития. В качестве материнской формы был использован сорт сахарной кукурузы, а в качестве отцовской – с крахмалистым эндоспермом. Частота мутаций гена оценивалась по количеству крахмалистых зерен на початках материнской формы. Было установлено, что максимальное количество мутаций наблюдается при облучении растений в дозе 10 Гр в фазу начала цветения – оно в 4 – 20 раз превышало их уровень при облучении в этой же дозе в другие фазы онтогенеза (табл. 32).

Таблица 32

Частота эндоспермных мутаций гена Su при гамма-облучении растений кукурузы в дозе 10 Гр в различные фазы онтогенеза (И. Черни, 1972)

Фазы, в которые облучали отцовские растения	Общее количество семян	Количество семян с мутацией	Процент мутаций
Контроль (без облучения)	240	0	0
Начало дифференциации соцветия	758	37	4,88
Дифференциация цветка, рост стебля	596	41	6,88
Микроспорогенез	375	10	2,67
Начало гаметогенеза, выметывание метелки	873	114	13,10
Начало цветения	545	286	52,48

Н. Ф. Батыгин и М. А. Питиримова (1977), облучая растения ячменя в различные фазы развития, обнаружили максимальное количество хлорофильных мутаций при облучении в фазу выхода в трубку, а наибольшее количество морфологических изменений – при облучении в фазу формирования соцветия.

По-видимому, выход мутаций определяется многими признаками и в первую очередь спецификой вида, а также типом мутаций, избранных для

оценки мутабильности. Но в целом наибольшее количество новых наследуемых признаков возникает при облучении растений во второй половине онтогенеза и в особенности в период формирования половых продуктов.

Для усиления эффективности мутагенеза используют также хроническое облучение растений на протяжении всего вегетационного периода в условиях гамма-поля. Но и в отношении к этому приему среди исследователей существуют разногласия. Одни категорически утверждают, что при хроническом облучении удается добиться существенного увеличения выхода мутаций, как на единицу дозы облучения, так и на единицу выживаемости растений. Другие отдают предпочтение пофазному облучению растений, считая, что хроническое не дает каких-либо серьезных преимуществ, но значительно усложняет работу. Более того, ввиду высокой радиочувствительности растений на ранних этапах эмбриогенеза при облучении на гамма-поле может существенно возрастать стерильность растений.

Некоторые преимущества при получении новых форм растений по сравнению с облучением семян может дать облучение пыльцы. В отличие от семян, у которых зародыш состоит из тысяч клеток, пыльцевое зерно представляет собой одну клетку с генеративным ядром. И мутации, возникающие в нем, переходят сразу же во все клетки образующегося из зиготы растения. Таким образом, растение уже в первом поколении после оплодотворения облученной пыльцой становится мутантным, что в некоторых случаях позволяет, по меньшей мере, на год сократить сроки селекционного процесса.

Пыльца, как правило, более радиочувствительна, чем семена того же вида растения. Но она может прорастать даже при очень высоких дозах ионизирующих излучений, не осуществляя, однако, нормального оплодотворения. Более того, пыльца и с убитым облучением ядром способна вызвать у некоторых видов растений развитие завязи. Однако такая завязь несет только материнские хромосомы, и, соответственно, растения, выросшие из семян, начало которым дали яйцеклетки, оплодотворенные такой пыльцой, будут нести признаки лишь материнского растения. Все эти особенности необходимо учитывать при работе с облученной пыльцой.

С целью получения новых форм растений можно также облучать клубни, корнеплоды, корневища, луковицы, черенки и другие органы вегетативного размножения. Ввиду высокой чувствительности к ионизирующим излучениям этих видов материала, дозы, используемые для облучения, всегда бывают более низкими, чем при облучении семян.

Работа с облученными органами вегетативного размножения предоставляет определенные преимущества по сравнению с работой с облученными семенами. Так, если при облучении последних многие возникшие мутации могут элиминироваться (исключаться) в процессе редукционного деления и образования гамет, то при облучении вегетативных органов они сразу же будут закрепляться и передаваться потомству.

Иногда удается повысить выход мутантов, сочетая облучение семян и органов вегетативного размножения, семян и пыльцы, органов вегетативного размножения и пыльцы.

Использование ионизирующих излучений в селекции растений среди всех радиационно-биологических приемов и технологий, применяемых в сельском хозяйстве, получило наибольшее распространение и продолжает развиваться высокими темпами как самостоятельное направление прикладной и сельскохозяйственной радиобиологии. Так, если к 1980 г., по данным Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ), было получено с помощью радиационного мутагенеза и внедрено в мире *225* новых сортов культурных растений, обладающих более четко выраженными, чем у исходных форм, хозяйственно полезными признаками, то к 1985 г. их было уже 693 (табл. 33), а к 1990 г. превысило 1000.

Таблица 33

Количество сортов культурных растений, полученных с помощью метода радиационного мутагенеза в различных странах

Страна*	1980	1985	Страна	1980	1985
Индия	35	114	Аргентина	3	3
США	26	53	**Нидерланды**	2	102
Япония	21	59	Бирма	2	4
СССР	18	49	Таиланд	2	3
Швеция	15	21	Венгрия	2	3
Чехословакия	15	16	Норвегия	1	1
Италия	9	13	Дания	1	2
Китай	9	104	Индонезия	1	3
Канада	7	14	Пакистан	1	6
ФРГ	7	27	Кот-д'Ивуар	1	1
Великобритания	6	7			
Бангладеш	6**	4	Алжир	1	1
Финляндия	6	9	Египет	1	1
Австрия	5	5	Греция	1	1
Франция	5	18	Бельгия	2	11
Болгария	4	8	Польша	—	4
Австралия	3	4	Бразилия	—	1
Филиппины	3	3	Чили	—	1
ГДР	3	20			
Южная Корея	3	3	Итого:	225	693

** Страны приведены в порядке по состоянию на 1980 г. (А. Микке, 1981).*
*** Сведения, по-видимому, ошибочны.*

Первое место по получению новых сортов с помощью ионизирующих излучений занимает Индия, где по специальным программам на протяжении более двух десятилетий проводятся широкомасштабные работы по выведению высокоурожайных сортов многих культур, и в первую очередь риса и пшеницы. Резкий скачок в этом направлении за последние годы сделали Китай и Нидерланды. Большие работы проводятся в Японии, США, СССР и многих других странах. С помощью радиационного мутагенеза получены 104 сорта риса, среди

которых выведенный в Индии высокобелковый сорт СВ 24, полученный в Японии высокоурожайный сорт Рей Мей; 70 сортов ячменя, в том числе знаменитый неполегающий сорт Палас, получивший широкое признание и распространение в мире и ставший родоначальником целой группы новых сортов шведской селекции, полученные в США зимостойкие сорта Пенрад и Найлана; 55 сортов пшеницы, среди которых высокобелковый индийский сорт Сор-бати-Сонора; 14 сортов кукурузы, 12 сортов хлопчатника, 11 сортов овса, 10 сортов фасоли, 8 сортов гороха и других сельскохозяйственных культур.

В СССР давно проводятся работы по получению новых сортов сельскохозяйственных культур с помощью ионизирующей радиации. Широкую известность получил высокоурожайный сорт пшеницы Новосибирская 67; устойчивый к полеганию сорт ячменя Обский; высокоурожайные, скороспелые, устойчивые к низким температурам сорта гречихи Аэлита, Лада, Галлея; высокоурожайные, скороспелые, вилтоустойчивые сорта хлопчатника Мутант 1, АН-402, АН-Самарканд-2, Ок-Олтын, Фардах, Агдаш; низкоалкалоидные сорта люпина Мутант 486, Трансколант, Киевский мутант; высокоурожайные и скороспелые сорта фасоли Радиола 1175, Урожайная, Грузинская 6, Мутант 7; высокоурожайные и неполегающие сорта сои Мутант 2 и Картули 7; устойчивый к фитофторе сорт картофеля Рентгеновский; высокорослый с повышенным содержанием белка сорт люцерны Мутант 1; сорт мяты Зимостойкая 1, о достоинствах которой говорит ее название; высокоурожайный с коротким вегетационным периодом сорт конских бобов Радиомутант 8 и многие другие.

Учебное издание

Автор:
Моссэ Ирма Борисовна.

«Лекции по радиационной генетике»

Учебное пособие

В авторской редакции

Технический редактор М.Л. Шимкевич

Международный государственный экологический
университет им. А.Д. Сахарова
ул. Долгобродская, 23, 220009 Минск