

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ
В КЛЕТКАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ
УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ
И КОСМИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Б.С. Федоренко, С.В. Ворожцова, В.Н. Герасименко,
С.В. Дружинин, Л.А. Юдаева*

Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических
проблем, Москва

Г.П. Снигирева

Научно-исследовательский институт диагностики и хирургии МЗ РФ, Москва

В.А. Шевченко

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

ВВЕДЕНИЕ	470
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ И ТЯЖЕЛЫМИ ИОНАМИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЫШЕЙ IN VIVO	471
ВЛИЯНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРОВ НА ЧАСТОТУ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В КЛЕТКАХ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЫШЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ	481
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ IN VIVO И IN VITRO, ОБЛУЧЕННЫХ УСКОРЕННЫМИ ЗАРЯЖЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ РЕЛЯТИВИСТСКИХ ЭНЕРГИЙ	483

ПРОЦЕССЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ ЗАРЯЖЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ	493
ОТНОСИТЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ РАЗЛИЧНЫХ ЭНЕРГИЙ	498
ВЛИЯНИЕ КОСМИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТУ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОСМОНАВТОВ	505
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	519
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	522

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В КЛЕТКАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ И КОСМИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Б.С. Федоренко, С.В. Ворожцова, В.Н. Герасименко,
С.В. Дружинин, Л.А. Юдаева*

Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем, Москва

Г.П. Снигирева

Научно-исследовательский институт диагностики и хирургии МЗ РФ, Москва

В.А. Шевченко

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Представлен обзор результатов собственных исследований и литературных данных по проблеме изучения цитогенетических эффектов в клетках эпителия роговицы мышей и культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* при действии тяжелых ионов низких энергий, протонов широкого энергетического спектра и ускоренных релятивистских ядер. Исследования выполнены на ускорителях заряженных частиц Объединенного института ядерных исследований. На основе полученных данных определены коэффициенты относительной биологической эффективности излучений, показана их зависимость от различных биологических и физических факторов.

Кроме того, в обзоре изложены результаты впервые проведенных исследований цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови космонавтов в пред- и послеполетном периодах. Показано увеличение частоты абберрантных клеток и абберраций хромосомного типа после длительных космических полетов. Нарушения генетического аппарата клеток могут привести к нежелательным последствиям в отдаленные сроки после воздействия ионизирующих излучений.

A survey has been presented of the results of own studies and literature data on the cytogenetical effects in cornea epithelium cells of mice and in human peripheral blood lymphocytes cultured *in vitro* which occur due to the action of heavy ions of low energy, protons of

broad energy spectrum and heavier accelerated particles. The studies were performed at the accelerators of the Joint Institute for Nuclear Research. Coefficients of relative biological effectiveness of radiations have been determined, and their dependence upon different biological and physical factors has been shown.

Chromosomal aberrations in cosmonauts' blood lymphocytes before and after space flights have been studied. It has been shown that the frequency of aberrant cells and of chromosomal-type aberrations increases after long space flights. The damage to the hereditary apparatus of cells may lead to unfavourable consequences in distant periods of time after irradiation with ionising radiation.

ВВЕДЕНИЕ

Постоянное возрастание интереса к радиобиологическим исследованиям тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) связано, с одной стороны, с успешным освоением космического пространства, а с другой — со все более расширяющимися возможностями использования тяжелых ионов в радиотерапии злокачественных новообразований и в других отраслях медицины и биологии.

Обеспечение радиационной безопасности экипажей при длительных космических полетах диктует необходимость разностороннего изучения биологических эффектов, обусловленных космическим излучением. Сложный состав космического излучения и широкий энергетический спектр входящих в него частиц предопределяет трудности адекватной оценки радиационной опасности космического излучения. Как известно, космическое излучение состоит преимущественно из высокоэнергетических протонов (около 80% по потоку), α -частиц (13%), и в небольшом количестве в его составе обнаружены более тяжелые ядра. Вместе с тем последние вызывают более половины всех нарушений, обнаруживаемых в биологических объектах. Воспроизвести влияние космического излучения в земных условиях не представляется возможным. Поэтому основным источником получения информации об опасности космического излучения для живых организмов до настоящего времени являются экспериментальные исследования на ускорителях заряженных частиц, позволяющие изучать влияние отдельных его составляющих. Ограниченная часть исследований в области космической радиобиологии может быть проведена в условиях космических полетов. Таким исследованием, в частности, является цитогенетическое изучение частоты и видов хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови космонавтов *in vivo* в пред- и послеполетном периоде, результаты которого представлены в настоящей работе.

В процессе митотического деления клеток высших организмов хромосомы — основные носители наследственного материала — становятся доступными для анализа разнообразных структурных повреждений. При формиро-

вании метафазы появляется возможность регистрировать такие нарушения структуры хромосом, как хромосомные и хроматидные фрагменты, дисцентрики, кольцевые хромосомы, транслокации и другие аберрации хромосомного и хроматидного типов. Анализ этих нарушений структуры хромосом составляет раздел современной экспериментальной цитогенетики, получивший название метафазного анализа аберраций хромосом. На стадиях анафазы и телофазы митоза дочерние хромосомы расходятся к полюсам двух формирующихся клеток и их структурные нарушения становятся видимыми под микроскопом в виде хромосомных и хроматидных мостов и фрагментов. Этот метод наблюдения хромосомных нарушений, получивший название ана-телофазного метода, исследователи широко используют для изучения влияния различных факторов, в том числе и изучения биологического действия ускоренных заряженных частиц. Возможность количественной характеристики развивающихся эффектов на цитогенетическом уровне позволила установить многие закономерности влияния ионизирующих излучений на живые клетки и, в частности, оценить относительную биологическую эффективность (ОБЭ) излучений широкого спектра энергий.

В настоящем сообщении представлены результаты цитогенетических исследований, основной задачей которых являлось изучение особенностей биологического действия ускоренных заряженных частиц с различными линейными передачами энергии (ЛПЭ), определение коэффициентов относительной биологической эффективности (ОБЭ) ускоренных заряженных частиц, необходимых для оценки опасности космического излучения. В связи с этим в работе представлен анализ цитогенетических эффектов у экспериментальных животных при воздействии протонов и тяжелых ионов, рассмотрены вопросы модифицирующего влияния радиопротекторов в условиях воздействия ускоренных заряженных частиц, а также особенности пострadiационного восстановления клеток. Авторы сочли целесообразным также представить материалы впервые проведенных исследований влияния космического излучения на наследственные структуры лимфоцитов периферической крови 24 космонавтов с применением метафазного метода цитогенетического анализа.

Результаты исследований *in vivo* и *in vitro* важны для комплексной оценки радиационных рисков и формирования адекватной системы обеспечения радиационной безопасности при длительных космических полетах.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ И ТЯЖЕЛЫМИ ИОНАМИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЫШЕЙ *IN VIVO*

Клетки эпителия роговицы глаза мелких лабораторных животных являются удобной моделью для изучения относительной биологической эффективности тяжелых заряженных частиц. Клетки роговицы мышей состоят из 3—4 слоев эпителия, при этом два нижних из них имеют достаточно однотипное строение клеток. В процессе старения клетки мигрируют на поверхность

ткани, теряя способность к делению, постепенно отмирают и слущиваются. В роговой оболочке отсутствуют кровеносные сосуды, а снабжение ее необходимыми питательными веществами происходит из прилежащей к ней соединительной ткани. У мелких лабораторных животных имеется четко выраженный суточный ритм митотической активности эпителия роговицы, который сохраняется в экстремальных ситуациях [1]. Митотическая активность эпителия роговицы мышей достигает максимума в утренние часы. В период между 12 и 15 часами митотический индекс близок к среднему его значению за сутки, затем он постепенно снижается до 22 часов, а далее вновь постепенно возрастает. Амплитуда суточных колебаний и среднесуточные значения митотического индекса эпителия роговицы здоровых мышей могут варьировать вследствие сезонности или неоднородности экспериментального материала, однако характер суточных колебаний митотической активности остается неизменным [2—4]. Эти особенности строения роговицы позволяют не только быстро и относительно просто приготовить препараты для цитогенетического анализа, но и проводить исследования в период наиболее высокой митотической активности клеток.

Условия облучения экспериментальных животных на ускорителях Объединенного института ядерных исследований неоднократно описаны нами ранее [5—10]. В табл.1 показаны физические характеристики и уровни доз использованных в экспериментах излучений. Кроме того, животных облучали ядрами релятивистских энергий: протонами, 9 ГэВ (ЛПЭ=0,23 кэВ/мкм), ионами гелия, 4 ГэВ/нуклон (ЛПЭ = 0,88 кэВ/мкм), а также ионами углерода, 4 ГэВ и 300 МэВ/нуклон (ЛПЭ = 7,6 и 12,7 кэВ/мкм соответственно).

Таблица 1. Физические характеристики ускоренных заряженных частиц, использованных в экспериментах по изучению цитологических и цитогенетических нарушений в клетках млекопитающих

Вид излучения	ЛПЭ, кэВ/мкм	Энергия, МэВ/нуклон	Мощность дозы, сГр/мин	Диапазон использованных доз, сГр
Протоны	2,14	25	0,3	50 ÷ 750
	1,22	50	0,3	50 ÷ 750
	0,25	645	7,0	200 ÷ 800
Ионы гелия	19,7	9,7	10,0	25 ÷ 250
	27,3	6,0	10,0	25 ÷ 250
	37	4,0	10,0	25 ÷ 250
Ионы бора	150	7,5	10,0	25 ÷ 250
Ионы углерода	438	2,5	10,0	25 ÷ 250
Ионы неона	632	6,0	10,0	25 ÷ 250
Гамма- и рентген. лучи	0,25	—	5,0	50 ÷ 750

Результаты проведенных исследований показали, что воздействие протонов с энергиями 25, 50, 645 МэВ, тяжелых ионов и стандартного излучения вызывало значительные нарушения процессов деления клеток эпителия роговицы мышей, которые проявлялись прежде всего в изменении темпа клеточного деления, показателем чего является снижение митотической активности клеток (рис. 1). Наибольшее изменение митотического индекса наблюдалось через 24 часа после воздействия излучений. В последующие сроки имело место восстановление этого показателя. Интенсивность его зависела от величины поглощенной дозы, энергии и вида излучения. При прочих равных услови-

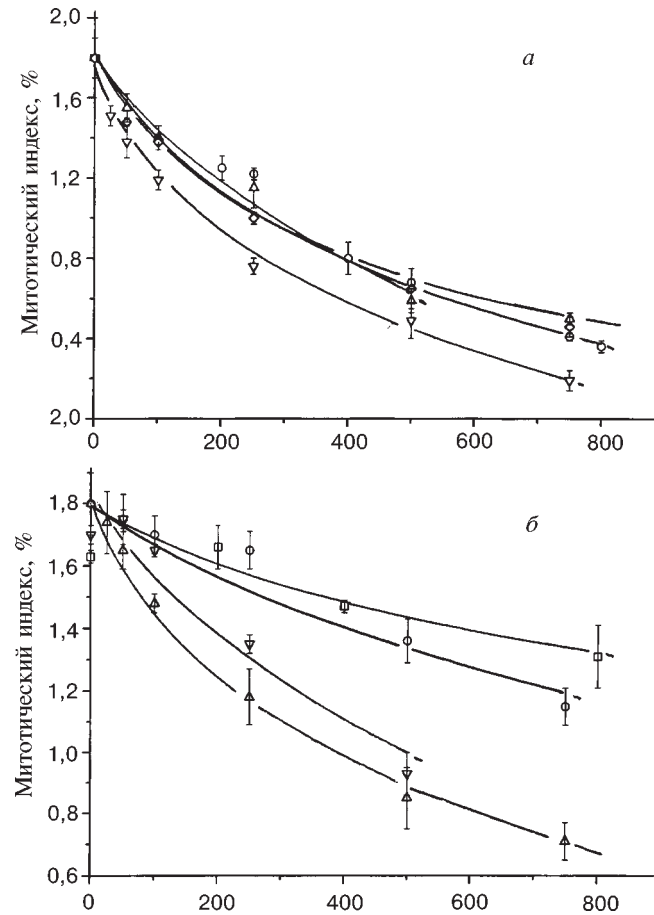


Рис. 1. Зависимость снижения митотического индекса в клетках эпителия роговицы мышей через 24 (а) и 120 (б) часов после облучения протонами с энергией 645 МэВ (○), 50 МэВ (Δ), 25 МэВ (▽) и рентгеновскими лучами (◇)

ях глубина изменения митотического индекса возрастала с увеличением дозы. При анализе дозовой зависимости было показано, что она удовлетворительно описывается следующей формулой:

$$y = y_0 - a(1 - e^{-\alpha D}),$$

где y — митотический индекс, %; y_0 — фоновое значение митотического индекса, %; D — доза, крад; a — свободный член; α — угол наклона кривых, при малых значениях αD .

Сравнительный анализ митотической активности клеток в зависимости от энергии и вида излучения показал, что наиболее существенное угнетающее действие на клетки эпителия роговицы мышей оказывали ионы бора и углерода. Далее в порядке снижения эффективности идут протоны с энергией 25 МэВ. Протоны с энергией 50 МэВ вызывали такие же по величине изменения, как и 180 кВ рентгеновские лучи, тогда как протоны 645 МэВ оказывали менее выраженное снижение митотической активности клеток эпителия роговицы мышей. При сопоставлении равноэффективных доз, вызывающих снижение митотической активности в два раза по сравнению с контролем, было выявлено, что относительная эффективность ионов бора, углерода и протонов с энергиями 25, 50 и 645 МэВ оказалась, соответственно, $4,0 \pm 0,2$; $3,8 \pm 0,2$; $1,6 \pm 0,1$; $1,0 \pm 0,1$; $0,8 \pm 0,1$ по сравнению с рентгеновскими лучами 180 кВ. При сопоставлении полученных значений ОБЭ с ЛПЭ соответствующих излучений отмечено наличие выраженной корреляции между обоими показателями — увеличение коэффициентов ОБЭ при возрастании значений ЛПЭ.

С целью выявления возможных качественных различий в реакции клеток на воздействие протонов и тяжелых ионов сделан анализ длительности фаз митоза в различные периоды после облучения, а также проведены расчеты изменения длительности клеточного цикла в целом. Результаты этих исследований (табл. 2) показали, что воздействие протонов с энергиями 50, 645 МэВ и рентгеновских лучей вызывало аналогичные по направленности и выраженности изменения длительности отдельных фаз клеточного цикла. Незначительные отличия были найдены при анализе изменений длительности фаз митоза, вызываемых протонами с энергией 25 МэВ и тяжелыми ионами. Эти изменения касались главным образом увеличения времени, необходимого для полного разъединения сестринских хроматид и перемещения их к полюсам. Проведенные расчеты длительности митотического цикла выявили его значительное удлинение как после облучения протонами всех использованных энергий и тяжелыми ионами, так и после воздействия рентгеновских лучей. Облучение тяжелыми ионами и протонами 25 МэВ приводило к значительно более выраженному увеличению продолжительности митотического цикла, тогда как после воздействия протонов с энергией 50 и 645 МэВ и рентгеновских лучей существенных различий в изменении длительности митотического цикла не обнаружено.

Таблица 2. Изменение продолжительности митотического цикла клеток эпителия роговицы мышей через 24 часа после облучения

Вид излучения	Доза, сГр	Длительность митотич. цикла, ч
Ионы углерода, 2,5 МэВ/нуклон	25	58,1±13,5
	50	61,8±12,7
	100	81,5±17,7
	250	120,9±11,7
	500	144,2±33,3
Протоны, 645 МэВ	250	61,5±5,4
	500	108,7±3,3
	750	182,9±8,9
Протоны, 50 МэВ	50	48,3±2,2
	100	53,5±2,3
	250	65,2±6,2
	500	127,1±12,9
	750	15,0±9,0
Протоны, 25 МэВ	25	49,6±1,6
	50	54,3±3,2
	100	63,0±2,6
	250	88,7±5,2
	500	153,0±28,1
	750	394,7±10,4
Рентгеновские лучи, 180 кВ	50	50,7±2,7
	100	54,0±1,6
	250	60,0±1,4
	500	88,0±10,3
	750	163,0±17,7
Контроль	–	41,6±2,8

Облучение протонами и тяжелыми ионами вызывает образование большого количества клеток с абберациями хромосом, выявляемых в анафазах и телофазах митоза, частота которых зависит от энергии, вида, дозы излучения и сроков исследования после их воздействия (рис. 2).

Полученные данные указывают на наличие отчетливой зависимости проявления наблюдаемых эффектов от величины дозы. В диапазоне использованных доз эта зависимость носит экспоненциальный характер и удовлетворительно описывается следующим уравнением:

$$y = c - ae^{-\alpha D},$$

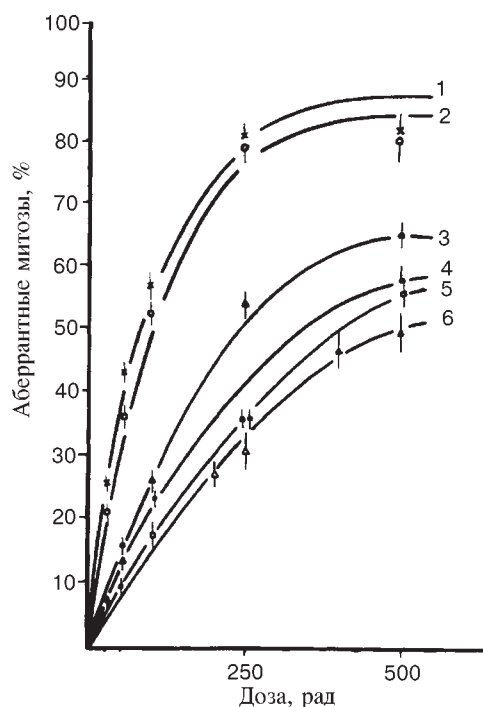


Рис. 2. Зависимость частоты абберрантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей от дозы ионов бора (1), углерода (2), протонов 25 МэВ (3), рентгеновских лучей (4), протонов с энергией 50 (5) и 645 МэВ (6)

где $D \Rightarrow \infty$, $y = y_{\max}$ — количество хромосомных aberrаций, соответствующее эффекту насыщения; $\alpha = 1/D_{37}$, где D_{37} — доза, при которой у 37% делящихся клеток отсутствуют хромосомные aberrации.

Анализ семейства кривых, отражающих зависимость величины наблюдаемых эффектов от дозы излучения, выявил ряд особенностей, касающихся вида, формы и взаимного расположения. Обращает на себя внимание единая форма кривых зависимости доза — эффект, характеризующихся относительно высокими значениями эффекта, приходящегося на единицу дозы при действии сравнительно низких доз излучений, и постепенным снижением относительного эффекта при увеличении дозы. В большей степени эта закономерность характерна для излучений с большими ЛПЭ, особенно после воздействия ионов бора и углерода. Для кривых, характеризующих зависимость доза — эффект при ранних сроках фиксации (24 и 72 часа), проявляется взаимное расположение, определяемое величиной ЛПЭ исследуемых излучений. Чем ниже ЛПЭ излучений, тем более пологий вид кривых. И, наконец, форма кривых зависела от длительности промежутка времени после воздействия излучений. Спустя 120 часов после облучения протонами и рентгеновскими лучами наблюдалось близкое к линейному возрастание эффекта с увеличением дозы (рис. 3).

Результаты количественного анализа зависимости частоты абберрантных митозов от дозы позволили сделать оценку относительной биологической эффективности излучений по указанному критерию. Коэффициенты ОБЭ, вычисленные на основании сопоставления доз, при воздействии которых в 37% делящихся клеток отсутствовали хромосомные aberrации, через 24 часа после лучевого воздействия, зависели от ЛПЭ излучений и составляли от $0,73 \pm 0,03$

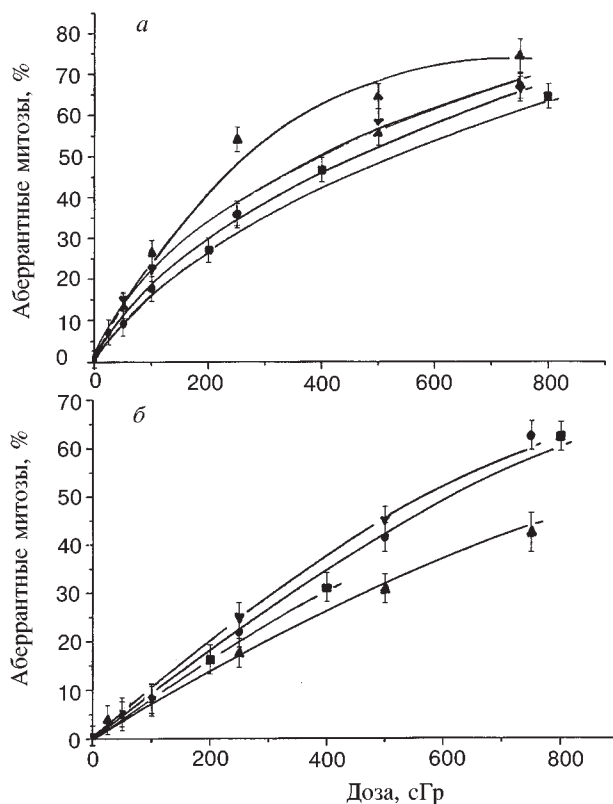


Рис. 3. Частота aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 (*a*) и 120 часов (*б*) после облучения протонами различных энергий и рентгеновскими лучами 180 кВ: (■) протоны 645 МэВ, (●) протоны 50 МэВ, (▲) протоны 25 МэВ, (▼) рентгеновские лучи

для протонов с энергией 645 МэВ (ЛПЭ = 0,25 кэВ/мкм) до $4,65 \pm 0,02$ для ионов бора (ЛПЭ = 155,0 кэВ/мкм) (табл.7).

В связи с неодинаковой скоростью элиминации поврежденных клеток коэффициенты ОБЭ ускоренных заряженных частиц в более поздние сроки исследования после лучевого воздействия имели другие значения.

Физические характеристики излучений и экспоненциальный характер кривых зависимости доза — эффект позволили рассчитать примерные величины поперечного сечения реакции образования aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы для различных видов излучений, которые можно описать уравнением:

$$\sigma = 1602 \cdot 10^{-8} \alpha dE / dx,$$

где σ — поперечное сечение реакции образования aberrантных митозов (см^2); $\alpha = 1/D_{37}; dE/dx$ — удельные потери энергии (кэВ/мкм). Расчеты указывают на увеличение поперечного сечения реакции с ростом ЛПЭ заряженных частиц (рис. 4). Наибольшая вероятность образования aberrантных митозов имеет место, когда σ достигает величины порядка 30 мкм^2 . Именно такая величина соответствует геометрическим размерам биологической мишени, представляющей собой некоторую структурную единицу ядра или его хромосомного аппарата, попадание тяжелой частицы в которую ведет к образованию хромосомных нарушений. Иначе говоря, она соответствует площади эффективного взаимодействия частицы с клеткой. Возрастание σ при увеличении ЛПЭ показывает, что в этом случае абсолютная вероятность попадания одной частицы в чувствительный объем клетки возрастает. При облучении ионами неона (^{20}Ne) σ составляет 45 мкм^2 , что примерно равно площади ядер клеток. Поскольку наибольшие значения ОБЭ имели место при облучении ионами бора-11, надо полагать, что полученные значения σ в данном случае будут соответствовать площади проекции биологических структур в клетке, попадание в которые одной ТЗЧ с вероятностью, равной 1, приводит к образованию хромосомных поломок [5]. Однако при пересчете поглощенной энергии на единицу дозы общий выход aberrаций снижается, поскольку одновременно уменьшается количество частиц, попадающих на поверхность биообъекта. При этом

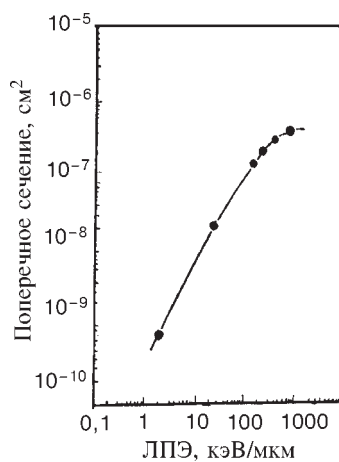


Рис. 4. Зависимость величины поперечного сечения реакции образования aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей от ЛПЭ излучений

в чувствительном объеме будет поглощаться больше энергии, чем это необходимо для образования наблюдаемых изменений. Эти представления согласуются с результатами исследований зарубежными авторами поперечного сечения инактивации при действии ТЗЧ на биологические структуры, изложенные в обзоре [11].

Наряду с определением количественного содержания aberrантных клеток проведен морфологический анализ цитогенетических нарушений и исследовано соотношение основных форм хромосомных нарушений. Такой анализ может представить дополнительные сведения о возможных качественных отличиях в действии исследуемых видов излучений и механизмах вызываемых ими нарушений. Результаты проведенных исследований привели к выводу о том, что облучение протонами не вызывает статистически

значимых изменений в соотношении известных форм хромосомных aberrаций (количества мостов к количеству фрагментов) по сравнению с действием рентгеновских лучей. Однако при облучении тяжелыми ионами имело место преимущественное образование мостов, относительное и абсолютное количество которых было в 3—6 раз больше, чем при действии рентгеновских лучей в тех же дозах. Это дает основание предполагать, что тяжелые ионы индуцируют хромосомные нарушения в клетках млекопитающих, которые отличаются от таковых при действии стандартного излучения не только относительно высокой частотой aberrантных митозов, но также наличием существенных качественных отличий. Воздействие тяжелых ионов приводит к появлению гигантских клеток и многополюсных митозов с частотой значительно большей, чем это имеет место при воздействии протонов или рентгеновских лучей в равных дозах. Преимущественное образование мостов после воздействия ионов углерода, по-видимому, связано с одновременным разрывом в клетке двух и более хромосом и, соответственно, участием этих разорванных хромосом в рекомбинациях, приводящих к образованию мостов, а также с различными типами изохроматидных разрывов и асимметричных обменов [12—14]. Максимальные изменения в количестве клеток наблюдались на третьи сутки после облучения животных (рис. 5). Наибольшая глубина изменений при действии высоких доз излучений (500 ÷ 750 сГр) не превышала 25—30% от исходного количества клеток, и она существенно не отличалась при действии рентгеновских лучей и протонов. В последующие сроки количество их быстро восстанавливалось, и к исходу седьмых суток при облучении в дозе 100 сГр содержание клеток приближалось к исходному уровню.

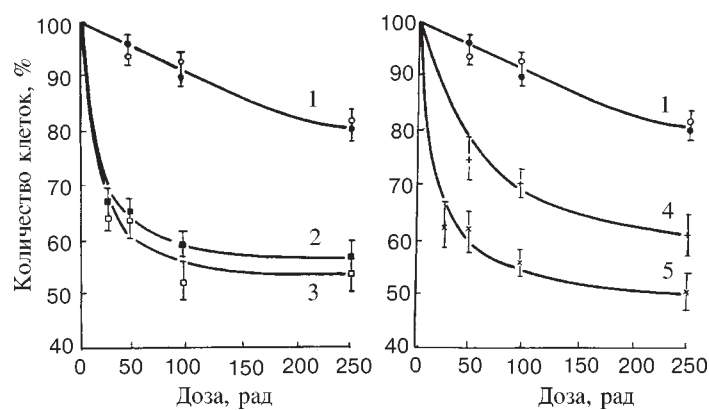


Рис. 5. Изменение числа клеток эпителия роговицы в зависимости от дозы излучений в различные сроки после воздействия тяжелых ионов и рентгеновских лучей: рентгеновские лучи через 2 (O) и 6 мес. (●), ионы гелия через 1,5 (■) и 3 мес. (□), ионы бора через 3 сут (×) и 6 мес. (+) после облучения соответственно

При облучении протонами и рентгеновскими лучами в дозах, превышающих 100 сГр, восстановление содержания клеток задерживалось до 20 суток. Энергия протонов заметного влияния на скорость восстановления количества клеток не оказывала. При действии тяжелых ионов снижение количества клеток и длительность состояния с пониженным содержанием клеток были более выраженными, чем при облучении рентгеновскими лучами и протонами в тех же дозах. На 30-е сутки после облучения ионами бора в дозе 100 сГр количество клеток составляло 42% от исходного. Относительно кратковременное уменьшение количества клеток связано с угнетением митотической активности клеток после воздействия редкоионизирующих излучений, тогда как при действии тяжелых ионов, по-видимому, основное влияние на развитие клеточного опустошения оказывала интерфазная гибель клеток. Преимущественное значение ее в развитии пострadiационного опустошения костного мозга было отмечено ранее [15]. Это приводит к мнению о том, что глубина изменения количества клеток находится в прямой зависимости от дозы облучения и вида излучения. Уровень энергии протонов не оказывал существенного влияния на опустошение и скорость восстановления количества клеток.

Необходимо отметить, что цитокинетические изменения у млекопитающих при действии протонов различных энергий и тяжелых ионов изучены и в других клеточных системах. В частности, значительный объем исследований выполнен на лимфоцитах периферической крови человека в культуре *in vitro* [16—19], кардиоцитах костного мозга экспериментальных животных [20—25], регенерирующей печени крыс [26—28], эмбриональных клетках человека [29], клетках кишечного эпителия [30, 31] и других объектах.

Большая тождественность эффектов, полученная в этих исследованиях, позволяет сделать заключение о наличии качественной идентичности и единых механизмах развития нарушений наследственного аппарата клеток при облучении биологических объектов протонами в диапазоне энергий от 50 до 645 МэВ и стандартными излучениями. Подобная тождественность проявления цитогенетических эффектов характерна и для множества других показателей радиационных нарушений в клетках и тканях млекопитающих, обусловленных протонами высоких энергий и стандартным излучением [32].

Со снижением энергии протонов, а также после воздействия тяжелых ионов, происходит существенный сдвиг цитогенетических и других нарушений в сторону утяжеления биологических эффектов, связанный в основном с увеличением линейной передачи энергии излучений. Основной мишенью при действии излучений на клетки, приводящем к задержке митотического деления клеток и замедлению процессов репарации вплоть до полного их прекращения, очевидно, является ДНК как носитель наследственной информации. Нерепарируемые повреждения приводят клетки к митотической гибели вскоре после воздействия излучений. При неправильной репарации могут возникнуть мутации, приводящие к трансформации клеток или другим патологиче-

ским отклонениям. Поэтому так важно выяснение механизмов повреждения молекулы ДНК, в частности, частоты одиночных и двойных разрывов. По-видимому, частота и скорость развития одиночных и двойных разрывов являются функцией ЛПЭ заряженных частиц. Скорость образования двойных разрывов, более губительных для клетки, зависит квадратично от плотности ионизации частиц [11], хотя эти вопросы требуют дальнейшего выяснения.

Одним из показателей, свидетельствующих о способности облученных клеток к репарации радиационных повреждений, является реакция клеток на воздействие радиопротекторов. Очевидно, что действие протекторов будет эффективным в том случае, если радиационное повреждение клетки потенциально способно к восстановлению (например, одиночные разрывы ДНК). Наоборот, в случае возникновения нерепарируемых или труднорепарируемых повреждений (например, двойных разрывов ДНК) не следует ожидать положительного эффекта при введении радиопротекторов.

ВЛИЯНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРОВ НА ЧАСТОТУ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В КЛЕТКАХ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЫШЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ

В работах более раннего периода установлено выраженное профилактическое действие известных радиопротекторов при облучении лабораторных животных протонами с энергией 660 МэВ и стандартным излучением, проявляющееся в равной степени [33, 34].

Введение мышам цистеамина за 15—20 мин до облучения закономерно приводило к уменьшению количества митозов с абберациями хромосом в клетках эпителия роговицы, вызываемых облучением протонами высоких энергий и рентгеновскими лучами (рис.6). Более отчетливое защитное действие препарата наблюдалось в случаях облучения животных протонами с энергией 25 и 50 МэВ. Через 24 часа после облучения значения ФУД (фактор уменьшения дозы) для протонов с энергией 645, 50, 25 МэВ и рентгеновских лучей был равен, соответственно, $1,1 \pm 0,1$, $1,3 \pm 0,1$, $2,0 \pm 0,1$ и $1,2 \pm 0,1$. На третьи сутки после облучения отмечалось некоторое уменьшение защитного действия препарата. Цистеамин не оказывал заметного влияния на выход абберантных митозов в клетках, облученных ионами углерода [35]. Таким образом, полученные материалы свидетельствуют о том, что эффективность противолучевого действия цистеамина распространяется не только на область протонов высоких энергий, что было известно ранее [36], но также и на протоны средних и низких энергий, что несомненно увеличивает возможности использования радиопротектора для профилактики радиационных поражений, вызываемых космическим излучением, а также подтверждает общие законо-

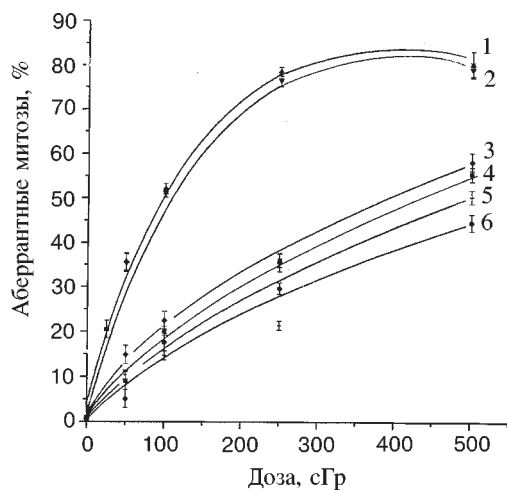


Рис. 6. Влияние цистеамина на частоту аберрантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 часа после облучения различными видами излучения: ионы углерода без протектора (1), ионы углерода с протектором (2), рентгеновские лучи 180 кВ (3), протоны с энергией 50 МэВ (4), рентгеновские лучи с протектором (5), протоны с энергией 50 МэВ с протектором (6)

мерности противолучевой защиты, характерные для редко-ионизирующих излучений. Единая направленность изменений в радиочувствительности при облучении протонами, рентгеновскими или гамма-лучами, наблюдавшаяся в условиях профилактического введения цистеамина, близкие количественные показатели выявленных изменений свидетельствуют об одинаковых механизмах возникновения и развития радиационных поражений, вызываемых протонами и стандартным излучением [5]. Проявление наибольшего защитного эффекта через 24 ч, то есть в первом постлучевом митозе, указывает на то, что в основе защитного действия цистеамина лежит снижение уровня первичных радиационных повреждений, приостановление или задержка перехода

потенциальных повреждений в истинные, возможное восстановление скрытых повреждений. Механизмы защиты, проявляющиеся в снижении количества аберрантных митозов, по-видимому, связаны с увеличением времени, необходимого для репарации радиационных повреждений хромосом, вызываемых тяжелыми ионами (рис.6), обусловленных более глубокими повреждениями наследственного аппарата клеток. Это подтверждает известные представления о малой перспективности использования радиопротекторов такого рода при действии плотноионизирующих излучений на клетки млекопитающих [37].

Изучено также влияние профилактического введения мышам АТФ (аденозинтрифосфат) и АМФ (аденозинмонофосфат, фосфаден) на развитие цитогенетических нарушений в клетках эпителия роговицы мышей, облученных протонами с энергией 9 ГэВ [38]. Введение радиопротекторов оказывало различное действие на митотическую активность клеток в зависимости от сроков наблюдения. Через 24 ч после облучения животных протонами введение АТФ и АМФ приводило к снижению митотической активности клеток. При этом

снижение митотического индекса в два раза достигалось при облучении дозами в полтора-два раза более низкими, чем без предварительного введения протекторов. Спустя 72 ч после действия излучения статистически значимых различий в изменении митотической активности клеток не выявлено в случае введения протекторов и без них. Вместе с тем введение АТФ и АМФ приводило к статистически достоверному снижению количества клеток с aberrантными митозами на 20—40% в зависимости от дозы излучения. Наиболее выраженный защитный эффект наблюдался через 24 ч после облучения, как и после введения цистеамина, то есть в первом митозе. Значения ФУД для протонов с энергией 9 ГэВ через 24 и 72 ч после облучения были равны $1,8 \pm 0,2$ и $1,7 \pm 0,2$ соответственно. Первоначальное снижение митотической активности клеток, вызываемое введением радиопротекторов, способствует пострадиационному восстановлению, что и проявляется в более быстрой и полной ликвидации последствий облучения.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ *IN VIVO* И *IN VITRO*, ОБЛУЧЕННЫХ УСКОРЕННЫМИ ЗАРЯЖЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ РЕЛЯТИВИСТСКИХ ЭНЕРГИЙ

Сравнительные исследования цитогенетических эффектов в клетках млекопитающих, облученных ускоренными заряженными частицами релятивистских энергий (протонами и дейтронами с энергией 9 ГэВ, ионами гелия и углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон) и стандартным излучением, также установили некоторые особенности биологического действия заряженных частиц, несмотря на низкие значения ЛПЭ этих излучений [38—42]. На рис. 7 показана зависимость образования числа клеток с хромосомными нарушениями в лимфоцитах периферической крови человека *in vitro* от дозы протонов, дейтронов, ионов гелия и гамма излучения ^{60}Co . Число aberrантных клеток после воздействия стандартного излучения увеличивалось линейно с дозой. После облучения биологических образцов заряженными частицами линейный характер зависимости эффекта от дозы сохра-

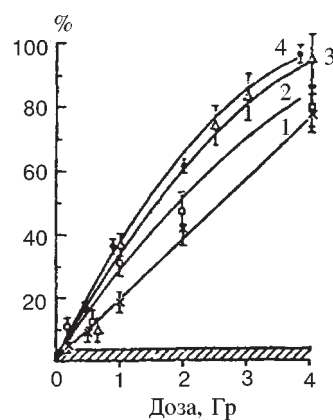


Рис. 7. Частота aberrантных клеток в культуре лимфоцитов крови человека в зависимости от дозы гамма-лучей (1), протонов (2), ионов гелия (3) и дейтронов (4) релятивистских энергий. По оси ординат — процент клеток с хромосомными aberrациями. Заштрихованная зона — интактный контроль

нялся до уровня дозы $2,0 \div 2,5$ Гр, что, по-видимому, может быть связано с задержкой деления клеток с большим числом хромосомных повреждений в результате воздействия высоких доз релятивистских ядер. Задержка вступления клетки в митоз при облучении относительно высокими дозами ионизирующего излучения показана на различных клеточных культурах [43—45]. Путем удлинения срока культивирования клеток исследователи достигали выравнивания дозовой кривой для частоты aberrантных клеток и некоторого повышения митотического индекса, который, однако, не достигал контрольных значений. По-видимому, это выравнивание дозовой кривой обусловлено вступлением в митоз «запоздавших клеток». Параллельно этому происходит и повышение митотического индекса.

Результаты цитогенетических исследований при действии ускоренных заряженных частиц релятивистских энергий также свидетельствуют о более высокой биологической эффективности данного вида излучений по сравнению с гамма-лучами. Наиболее высокие коэффициенты ОБЭ получены для ускоренных ионов гелия. Частота aberrантных клеток при облучении ионами гелия в дозе 4 Гр приближалась к 100%. При дозах облучения $1 \div 4$ Гр протоны, дейтроны и ионы гелия вызывали образование в два раза большего количества хромосомных aberrаций по сравнению с гамма-лучами (рис. 8). Расчеты частоты хромосомных aberrаций, приходящихся на одну aberrантную клетку, а также на aberrантную клетку на единицу дозы (1 Гр) подтверждают более высокую эффективность частиц релятивистских энергий. Так, после облучения дейтронами, протонами и ионами гелия в дозе 4 Гр каждая поврежденная клетка содержала в среднем 3,0, 4,48 и 4,40 aberrаций соответственно против 2,15 хромосомных aberrаций при действии стандартного излучения. Ускоренные ядра индуцировали в 2—3 раза больше повреждений на одну клетку в расчете на единицу дозы. Величина этого показателя увеличивалась с ростом дозы заряженных

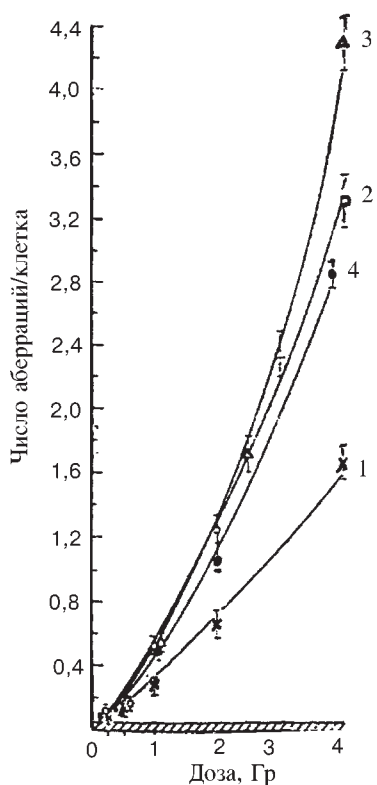


Рис. 8. Изменение общего числа хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов крови человека в зависимости от дозы гамма-лучей (1), протонов (2), ионов гелия (3) и дейтронов (4) релятивистских энергий

частиц, что отмечалось и при облучении биологических объектов другими видами ионизирующих излучений [46, 47].

Известно, что для характеристики цитогенетических нарушений в клетках млекопитающих важное значение имеет распределение аберраций хромосом по клеткам. При общем равномерном облучении оно соответствует распределению Пуассона [48]. Проведенный анализ позволил сделать заключение о различном характере распределения числа аберраций в клетках при действии заряженных частиц и гамма-излучения [49]. Отклонение от пуассоновского распределения числа аберраций в клетках в зависимости от дозы ускоренных заряженных частиц релятивистских энергий указывает на неравномерный характер распределения поглощенной энергии в клетках [42].

Таблица 3. Структурные хромосомные аберрации в лимфоцитах крови человека после облучения заряженными частицами релятивистских энергий и гамма-лучами

Вид излучения	Доза, сГр	Число просчитанных клеток	Аберрации хромосомного типа, %		Аберрации хроматидного типа, %
			ацентрики	дицентрики	
Гамма-лучи, ^{60}Co	0	600	$2,5 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,3$
	25	200	$3,5 \pm 1,3$	0	$1,5 \pm 0,9$
	50	200	$6,8 \pm 1,8$	$3,5 \pm 1,3$	$2,5 \pm 1,1$
	100	200	$14,0 \pm 2,6$	$10,0 \pm 2,2$	$4,0 \pm 1,4$
	200	200	$33,0 \pm 4,1$	$27,5 \pm 3,7$	$4,0 \pm 1,4$
	400	200	$78,0 \pm 6,2$	$82,0 \pm 6,4$	$6,0 \pm 1,7$
Ионы гелия, 4 ГэВ/ну-клон	0	200	$1,5 \pm 0,9$	0	$1,5 \pm 0,9$
	50	300	$11,5 \pm 2,0$	$3,3 \pm 1,0$	$2,0 \pm 0,8$
	100	300	$19,7 \pm 2,6$	$15,7 \pm 2,3$	$5,0 \pm 1,3$
	250	200	$75,5 \pm 6,1$	$81,0 \pm 6,4$	$13,0 \pm 2,5$
	300	200	$123,5 \pm 7,9$	$97,5 \pm 7,0$	$13,0 \pm 2,5$
	400	200	$177,5 \pm 9,4$	$223,0 \pm 10,6$	$22,5 \pm 3,4$
Протоны, 9 ГэВ	0	200	$2,5 \pm 1,1$	$0,5 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,5$
	20	200	$10,0 \pm 2,2$	$3,5 \pm 1,3$	$2,0 \pm 1,0$
	55	200	$9,5 \pm 2,2$	$5,5 \pm 1,7$	$2,5 \pm 1,1$
	100	200	$28,5 \pm 3,8$	$21,0 \pm 3,2$	$2,0 \pm 1,0$
	200	200	$73,0 \pm 6,0$	$45,0 \pm 4,7$	$5,0 \pm 1,6$
	400	200	$181,0 \pm 9,5$	$141,0 \pm 8,4$	$14,0 \pm 2,6$
Дейтроны, 4 ГэВ/ну-клон	0	800	$3,3 \pm 0,6$	0	$1,3 \pm 0,4$
	26	800	$6,4 \pm 0,9$	$0,5 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,4$
	49	800	$12,4 \pm 1,2$	$7,7 \pm 1,0$	$0,7 \pm 0,3$
	97	800	$22,6 \pm 1,7$	$23,3 \pm 1,7$	$2,8 \pm 0,6$
	202	800	$47,0 \pm 2,4$	$55,7 \pm 2,6$	$3,5 \pm 0,7$
	381	800	$129,8 \pm 4,0$	$148,7 \pm 4,3$	$6,0 \pm 0,9$

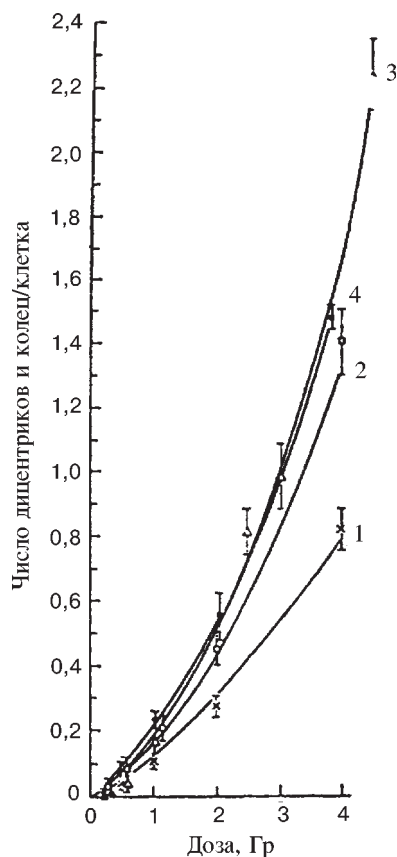


Рис. 9. Изменение числа дицентриков и колец в культуре лимфоцитов крови человека в зависимости от дозы гамма-лучей (1), протонов (2), ионов гелия (3) и дейтронов (4) релятивистских энергий. По оси ординат — число дицентриков и колец на клетку

Действие заряженных частиц релятивистских энергий проявлялось в резком увеличении частоты образования различных видов хромосомных нарушений (табл. 3). Основное количество среди них составляли парные ацентрические фрагменты, а также сложные aberrации обменного типа — дицентрики и кольца. Обращала внимание высокая частота aberrаций обменного типа (рис. 9). Число дицентриков и колец в культуре лимфоцитов в 1,5—2 раза превышало частоту парных ацентрических фрагментов. В клетках эпителия роговицы мышей количество aberrантных клеток с мостами в 3—10 раз превышало содержание клеток с фрагментами. В соответствии с этим в лимфоцитах возрастала и величина отношений общего числа двухударных aberrаций к одноударным, а также величина отношения дицентриков и колец к парным ацентрическим фрагментам [39, 50]. Образование значительного количества сложных обменных aberrаций хромосомного типа, по-видимому, обусловлено более глубокими повреждающими свойствами частиц релятивистских энергий при действии на хромосомный аппарат клеток млекопитающих. Скорее всего, оно является следствием нарушенной репарации радиационных повреждений, поскольку образование дицентриков и колец может быть результатом неправильной, «ошибочной» реституции хромосомных повреждений.

В значительно меньшей степени при облучении культуры лимфоцитов в G_0 -стадии клеточного цикла частицами релятивистских энергий происходило увеличение частоты хроматидных aberrаций. В несколько большей степени оно было выражено при более высоком уровне доз (2—4 Гр) ионов гелия и протонов и не превышало частоты хроматидных фрагментов после облучения дейтронами по отношению к гамма-излучению (табл. 4).

Таблица 4. Частота aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов крови человека после облучения ускоренными ионами углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон, %

Доза, сГр	Число изученных клеток	Число aberrантных клеток	Aberrации хромосомного типа			Aberrации хроматидного типа
			ацентрики	дицентрики	всего	
0	400	2,0±0,7	0	0	0	2,0
1	200	4,0±1,4	3,5	0	3,5	1,0
5	200	3,5±1,3	3,0	0	3,0	0,5
10	200	8,0±2,0	6,0	0	6,0	2,5
25	200	12,0±2,4	5,5	4,5	10,0	3,5
50	200	16,5±2,9	8,0	11,5	19,5	1,5
75	200	30,0±3,9	18,5	19,0	37,5	4,5
100	200	54,0±5,2	62,5	18,5	94,0	12,0
246	200	65,0±5,7	75,5	31,0	115,0	14,0

Таким образом, несмотря на низкие значения ЛПЭ ускоренных ядер релятивистских энергий, эффективность их по сравнению со стандартным излучением оказалась более высокой. Коэффициенты ОБЭ ионов гелия, протонов и дейтронов равны 1,7; 1,4 и 1,7 соответственно. Одной из возможных причин увеличения биологической эффективности излучений релятивистских энергий могут быть ядерные взаимодействия, в результате чего образуются вторичные частицы, ЛПЭ которых могут быть более высокими, чем у первичного излучения [11, 39]. Однако нельзя также исключить влияния черенковского излучения и других факторов.

Облучение биологических образцов относительно низкими дозами ускоренных ионов углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон, ЛПЭ которых составляет 7,6 кэВ/мкм, приводило к увеличению частоты индукции хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека *in vitro* (табл. 5). Сравнительный анализ литературных материалов, характеризующих действие низких доз стандартного излучения на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека *in vitro* [51], и полученных нами данных свидетельствует о значительно более высокой эффективности низких доз ионов углерода. Так, облучение ионами углерода в дозе 5 сГр приводило к увеличению частоты хромосомных aberrаций в 1,8 раз больше, чем в случае гамма-облучения в адекватной дозе. Эти различия значительно увеличивались с ростом дозы тяжелых заряженных частиц. Соответственно увеличивалось и число aberrаций хромосом, прихо-

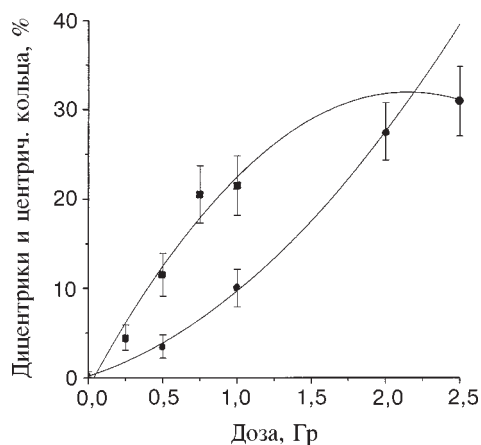


Рис. 10. Частота дицентриков и центрических колец в лимфоцитах крови человека *in vitro* при действии низких доз ионов углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон (■) и гамма-излучения (●)

дящихся на одну aberrантную клетку. При дозе 5 сГр оно составляло 1,3 и 1,1 для ионов углерода и гамма-излучения соответственно. Преобладающее число хромосомных нарушений в диапазоне низких доз ионов углерода и гамма-излучения было представлено aberrациями хромосомного типа, основную часть которых составляли парные ацентрические фрагменты и дицентрики (рис. 10). Отсутствие дицентриков на начальном участке дозовой кривой после воздействия ионов углерода объясняется, по-видимому, недостаточным количеством проанализированных метафаз. При дозах ионов углерода 0,25 и 0,5 Гр количество дицентриков в 3—3,5 раза превышало число таких аномалий хромосом, вызванных воздействием стандартного излучения. Полученные сведения сопоставимы с результатами исследований при облучении клеток млекопитающих тяжелыми ионами высоких энергий. По критерию 50%-ной выживаемости клеток почки человека значения коэффициентов ОБЭ ионов гелия с энергией 910 МэВ/нуклон не превышали единицы [52], тогда как облучение биологических образцов ионами неона с энергией 400 МэВ/нуклон и аргона с энергией 500 МэВ/нуклон приводило к увеличению коэффициентов ОБЭ до 2,1 и 2,3 [53]. Важную роль при этом играет место расположения биологического объекта на кривой ионизации (пик Брэгга). В случае облучения клеток почки человека в области пика кривой Брэгга тяжелыми ионами неона с энергией 500 МэВ/нуклон, ионами гелия и углерода (400 МэВ/нуклон), а также ионами гелия с энергией 230 МэВ/нуклон по уровню 50%-ной выживаемости клеток коэффициенты ОБЭ находились в пределах 3,1÷1,5 [54]. В этих исследованиях конкретное расположение биообъектов на кривой ионизации зависело от значения атомного номера элемента и находилось тем дальше на восходящей части кривой, чем тяжелее частица. Величина коэффициентов ОБЭ ионов углерода в области «плато» кривой составляла 1,3 и 1,6, а в области пика — 1,5 и 2,3 для двух типов клеток соответственно [55].

дующихся на одну aberrантную клетку. При дозе 5 сГр оно составляло 1,3 и 1,1 для ионов углерода и гамма-излучения соответственно. Преобладающее число хромосомных нарушений в диапазоне низких доз ионов углерода и гамма-излучения было представлено aberrациями хромосомного типа, основную часть которых составляли парные ацентрические фрагменты и дицентрики (рис. 10). Отсутствие дицентриков на начальном участке дозовой кривой после воздействия ионов углерода объясняется, по-видимому, недостаточным количеством проанализированных метафаз. При дозах ионов углерода 0,25 и 0,5 Гр количество дицентриков в 3—3,5 раза превышало число таких аномалий хромосом, вызванных воздействием стандартного излучения. Полученные сведения сопоставимы с результатами исследований при облучении клеток млекопитающих тяжелыми ионами высоких энергий. По критерию 50%-ной выживаемости клеток почки человека значения коэффициентов ОБЭ ионов гелия с энергией 910 МэВ/нуклон не превышали единицы [52], тогда как облучение биологических образцов ионами неона с энергией 400 МэВ/нуклон и аргона с энергией 500 МэВ/нуклон приводило к увеличению коэффициентов ОБЭ до 2,1 и 2,3 [53]. Важную роль при этом играет место расположения биологического объекта на кривой ионизации (пик Брэгга). В случае облучения клеток почки человека в области пика кривой Брэгга тяжелыми ионами неона с энергией 500 МэВ/нуклон, ионами гелия и углерода (400 МэВ/нуклон), а также ионами гелия с энергией 230 МэВ/нуклон по уровню 50%-ной выживаемости клеток коэффициенты ОБЭ находились в пределах 3,1÷1,5 [54]. В этих исследованиях конкретное расположение биообъектов на кривой ионизации зависело от значения атомного номера элемента и находилось тем дальше на восходящей части кривой, чем тяжелее частица. Величина коэффициентов ОБЭ ионов углерода в области «плато» кривой составляла 1,3 и 1,6, а в области пика — 1,5 и 2,3 для двух типов клеток соответственно [55].

Таблица 5. Различные виды поломок хромосом в клетках эпителия роговицы облученных мышей

Вид излучения	Доза, сГр	Время исследований, сут	Виды поломок, %		
			мосты	фрагменты	мосты с фрагмент.
Ионы углерода, 300 МэВ/нуклон	200	1	14,5±0	18,7±0,2	10,9±0,2
		3	9,9±0	16,2±0,2	23,7±0,2
		5	15,6±0	6,2±0,1	3,1±0,1
	400	1	5,1±0	13,8±0,2	4,2±0,2
		3	20,8±0	8,8±0,1	40,5±0,2
		5	25,6±0	8,4±0,2	11,0±0,1
Ионы гелия, 4 ГэВ/нуклон	250	1	13,7±1,0	20,1±1,7	8,3±0,5
		3	9,1±1,0	6,5±0,5	14,8±0,0
		5	10,4±1,1	3,2±0,4	1,7±0,2
	500	1	17,5±1,5	30,4±1,5	8,2±0,3
		3	12,4±1,1	4,9±0,2	17,8±1,1
		5	12,3±0,7	4,0±0,6	2,3±0,2
Гамма-лучи, Cs ¹³⁷	250	1	14,3±0,9	8,1±0,5	4,0±0,2
		3	3,4±0,2	4,3±0,3	7,6±0,3
		5	3,6±0,2	5,5±0,2	1,1±0,2
	500	1	24,5±1,5	10,6±0,6	4,0±0,3
		3	5,6±0,4	3,6±,5	3,4±0,6
		5	4,3±0,2	7,7±0,8	1,3±0,3

Такого же характера данные получены при изучении зависимости цитогенетических нарушений от величины дозы в клетках эпителия роговицы мышей, облученных ускоренными ионами гелия, углерода и протонами релятивистских энергий [5, 39, 56]. Кривые зависимости доза — эффект характеризовались относительно высокими значениями эффекта, приходящегося на единицу дозы при действии сравнительно низких доз излучений, с постепенным снижением эффекта при увеличении дозы. Так же, как и в экспериментах с культурой лимфоцитов периферической крови человека, характерным является линейный участок кривых доза — эффект с последующим насыщением в области дозы около 2 Гр. Образование большого числа хромосомных aberrаций сопровождалось угнетением митотической активности клеток, которое, как и в случае облучения низкоэнергетическими тяжелыми ионами, наиболее значительным было спустя 24 часа после облучения животных. Во всех случа-

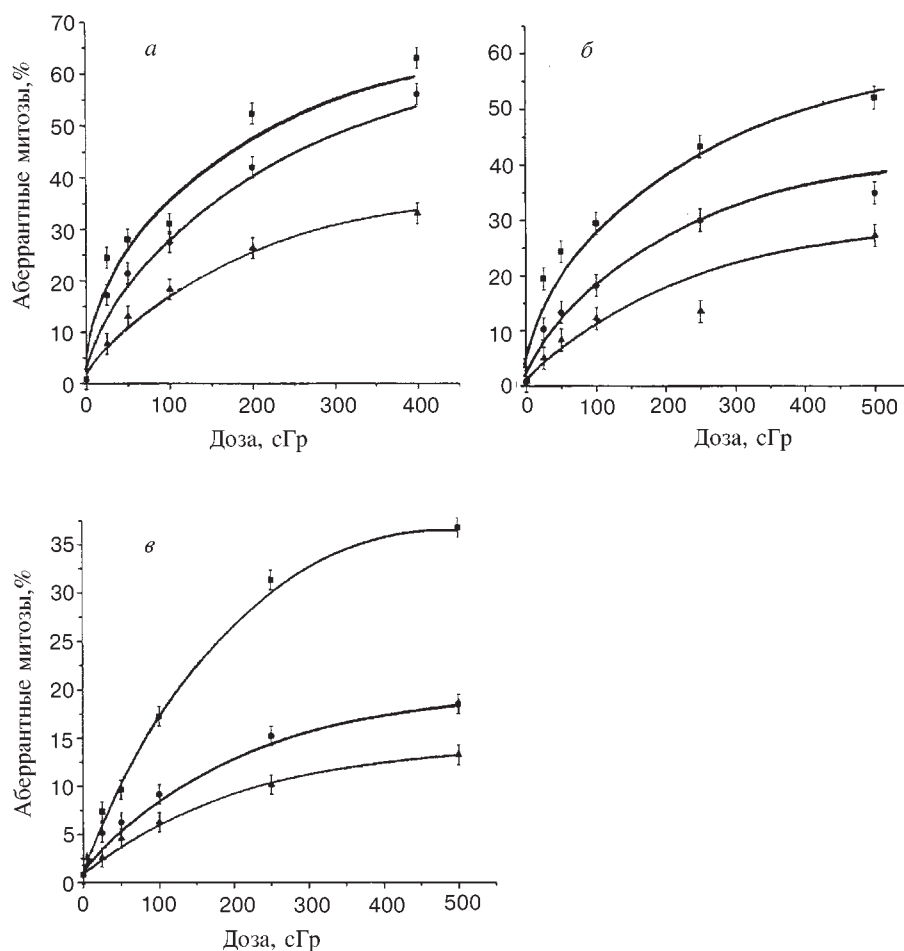


Рис. 11. Зависимость частоты образования aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 (а), 72 (б), 120 (в) часов после облучения ионами углерода 300 МэВ/нуклон (■), ионами гелия 4,6 ГэВ/нуклон (●) и гамма-лучами (▲)

ях снижение митотического индекса являлось функцией дозы и в большей степени проявлялось после облучения животных ионами гелия и углерода. Снижение митотической активности клеток приводило к уменьшению их количества, в большей степени выраженному после воздействия ускоренными заряженными частицами по сравнению со стандартным излучением.

Изучение динамики частоты образования aberrантных митозов через 24, 72 и 120 часов после облучения ионами гелия, углерода и гамма-квантами свидетельствует о том, что частота их образования зависит от дозы, вида излу-

чения и сроков исследования (рис. 11). Как видно из рисунка, воздействие ионов углерода с энергией 300 МэВ/нуклон и ионов гелия с энергией 4,6 ГэВ/нуклон приводило к образованию большего числа aberrантных митозов, чем в случае гамма-облучения в тех же дозах. Наибольшее число aberrантных митозов отмечалось через 24 часа после облучения. В последующие сроки происходило восстановление клеток от повреждений, и количество aberrантных митозов уменьшалось. Вместе с тем спустя 168 часов после облучения ионами углерода в дозах 200 и 400 сГр сохранилось до 15—20% aberrантных митозов, при облучении ионами гелия в дозах 200 и 500 сГр через 120 часов сохранилось до 20—30%, тогда как после воздействия гамма-лучами в течение такого же времени исследования и при тех же дозах сохранилось от 6 до 15% aberrантных митозов. Кривые, отражающие зависимость доза — эффект, полученные на основании изучения частоты образования aberrантных митозов после облучения тяжелыми ионами, характеризовались относительно высокими значениями эффекта, приходящегося на единицу дозы в области сравнительно низких доз облучения, и постепенным снижением его с увеличением дозы. Исходя из этого можно предположить, что увеличение частоты хромосомных aberrаций происходит до тех пор, пока доза не превысила определенного критического значения. При превышении его вследствие возможной гибели клеток или наступлении длительного блока перехода фаз митотического цикла, по-видимому, может наступить даже снижение относительного количества клеток с поломками хромосом. Коэффициенты ОБЭ ионов углерода и гелия, вычисленные на основании сопоставления равноэффективных доз, при воздействии которых в 50% делящихся клеток отмечалось образование aberrантных митозов через 24, 72 и 120 часов после лучевого воздействия, были, соответственно, равны $3,7 \pm 0,1$; $3,4 \pm 0,1$; $2,3 \pm 0,1$; и $2,7 \pm 0,3$; $2,1 \pm 0,2$; $1,3 \pm 0,2$.

Естественной единицей времени при исследовании кинетики клеточных популяций является средняя продолжительность клеточного цикла (T). Ее можно определить, если известны средняя продолжительность митоза и значение митотического индекса. Значение T у интактных животных, соответствующее митотическому индексу $1,9 \pm 0,1\%$ и средней продолжительности митоза 21 мин, равно $18,4 \pm 1,2$ часа. Продолжительность митотического цикла в тканях облученных животных может быть использована для интерпретации кривых изменения частоты хромосомных aberrаций во времени. Количество aberrантных клеток в первом цикле характеризует чувствительность генетических структур и интенсивность их восстановления, тогда как анализ содержания хромосомных aberrаций в последующий период времени позволяет получить сведения о судьбе aberrантных клеток. На протяжении первого клеточного цикла после облучения ионами углерода, гелия и гамма-лучами содержание хромосомных aberrаций определяли трижды через 1, 3, 5 суток. Можно определить соответствие сроков фиксации стадиям митотического

цикла. Основываясь на том, что в первую очередь в митоз вступают клетки, находящиеся в момент облучения на поздних стадиях цикла, можно считать, что первые сутки соответствуют конечным стадиям цикла, третьи — его середине, пятые — началу. Содержание aberrантных митозов, образовавшихся после облучения ионами углерода и гелия в дозах 200, 400 и 250, 500 сГр соответственно, достигает максимума в конце первого клеточного цикла. Оно на 6—14% для ионов углерода и на 10—16% для ионов гелия превосходит значения, которые характерны для середины клеточного цикла, а также на 18—20% — ионов углерода, и на 20,2—30,4% — ионов гелия.

В пределах эффективного объема в результате ионизации возникает так называемое «потенциальное повреждение», которое успевает восстановиться до наступления ближайшего митоза, либо реализоваться в хромосомную aberrацию. В процессе восстановления количество потенциальных фрагментов убывает и увеличивается количество потенциальных мостов. Поскольку вероятность восстановления растёт с увеличением времени между возникновением потенциального повреждения и его реализацией, она оказывается максимальной для клеток, находившихся в момент облучения в начале митотического цикла. Учитывая это, можно ожидать увеличения количества фрагментов и уменьшения количества мостов по мере смещения от начала первого цикла к его окончанию. При этом количество клеток с мостами и фрагментами, отражающее влияние этих двух противоположных тенденций, должно проходить через максимум примерно в середине клеточного цикла. Именно такая ситуация и наблюдается после облучения гамма-лучами. При облучении ионами углерода и гелия содержание клеток с мостами проходило через максимум в конце цикла, а с фрагментами — в начале цикла (табл. 5).

О судьбе aberrантных клеток можно судить на основании изучения их частоты в период после первого митоза. В то время как частота aberrантных клеток в первом пострadiационном митозе характеризует степень поражения генетических структур, изменения этого критерия в последующий период отражают последствия элиминации aberrаций в процессе митоза и репродуктивной гибели aberrантных клеток. На основании динамики изменения частоты хромосомных aberrаций после первого клеточного цикла было определено среднее время существования хромосомных aberrаций в эпителии роговицы мышей по формуле:

$$N = \sum_{l=k}^{l=m-1} \frac{F_l - F_{l+1}}{F} \left\{ \sum_{j=1}^{i=l-1} \delta_{i,j+1} + \frac{\delta_{l,j+1}}{2} \right\} + \frac{F_m}{F} \sum_{i=1}^{i=m-1} \delta_{i,j+1}$$

где $(F_l - F_{l+1})/F$ — относительное уменьшение частоты aberrантных митозов на отрезке между точками i и $i+1$; $\sum_{j=1}^{i=l-1} \delta_{i,j+1} + \frac{\delta_{l,j+1}}{2}$ — среднее время жизни aberrаций этой группы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что

среднее время существования хромосомных aberrаций, индуцированных в клетках эпителия роговицы мышей гамма-лучами ^{60}Co , ионами углерода и гелия в дозах $200 \div 500$ сГр, равно: $1,6 \div 2,4$; $2,5 \div 2,9$; $2,4 \div 2,7$ митотических циклов соответственно.

Морфологический анализ развивающихся нарушений и изучение соотношения основных форм хромосомных aberrаций в клетках эпителия роговицы показали, что особенностью действия исследуемых частиц релятивистских энергий, как и тяжелых ионов, является более высокий выход мостов по отношению к частоте фрагментов. Содержание мостов в 2—4 раза превышало содержание клеток с фрагментами, что может быть связано с одновременным разрывом двух хромосом, а также с различными типами изохроматидных разрывов и асимметричных обменов.

Таким образом, изучение цитогенетических нарушений в клетках млекопитающих, обусловленных частицами релятивистских энергий, показало, что этот вид излучений обладает общими эффектами, проявляющимися в снижении митотической активности клеток, уменьшении их количества, образовании aberrантных митозов в большем числе, чем это имело место после воздействия стандартного излучения, а также в более высоком выходе aberrаций обменного типа, указывающем на более глубокие повреждения наследственного аппарата клеток. В конечном счете это приводило к увеличению коэффициентов ОБЭ ускоренных ионов гелия и протонов релятивистских энергий. Рассчитанные по 50% уровню aberrантных клеток в культуре лимфоцитов периферической крови человека, коэффициенты ОБЭ составляли 1,8 и 1,4, а по числу aberrаций хромосом в лимфоцитах — 1,7 и 1,6 соответственно. Более высокие значения коэффициентов ОБЭ получены по частоте хромосомных aberrаций в клетках эпителия роговицы мышей, облученных ионами углерода и гелия релятивистских энергий. Для ионов углерода и гелия коэффициенты ОБЭ через 24, 72, 120 часов после облучения были равны $3,7 \pm 0,1$; $3,4 \pm 0,1$; $2,3 \pm 0,1$ и $2,7 \pm 0,3$; $2,1 \pm 0,2$; $1,3 \pm 0,2$ соответственно.

ПРОЦЕССЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ ЗАРЯЖЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ

Установление основных закономерностей развития радиационных поражений и восстановления клеток и тканей организма от повреждений — одна из основных проблем радиационной биологии и медицины. Она определяет необходимость изучения радиационных эффектов на разных уровнях организации живых систем в различных клетках и тканях организма при воздействии стандартного излучения и тяжелых заряженных частиц. Особенности радиационных поражений ТЗЧ, в частности, экспоненциальный характер зави-

симости эффекта от дозы, отсутствие или слабая выраженность кислородного эффекта и действия известных радиопротекторов, позволили сделать предположение о весьма низких репаративных способностях клеток млекопитающих, облученных ТЗЧ, или почти полном отсутствии процессов пострадиационного восстановления [57]. Специально проведенные исследования подтвердили это предположение [58, 59]. Как было показано, сублетальные повреждения клеток млекопитающих играют важную роль в развитии повреждений, обусловленных тяжелыми ионами. В тех случаях, когда клеточная гибель характеризуется экспоненциальной зависимостью эффекта от дозы, пострадиационное восстановление выражено слабо. В клетках эпителия роговицы мышей через два месяца после облучения ТЗЧ установлено сохранение высокого уровня клеток с аберрантными митозами, тогда как при воздействии рентгеновских лучей в более высоких дозах к этому сроку частота хромосомных аббераций фактически не отличалась от контрольных значений. Наряду с образованием большого числа клеток, содержащих хромосомные абберации, индуцированные ТЗЧ, отмечалось значительное клеточное опустошение роговицы [5].

Результаты исследований эффектов однократного облучения показали, что ТЗЧ вызывали те же нарушения в хромосомном аппарате, что и рентгеновские или гамма-лучи. Вместе с тем частота нарушений, а также относительное содержание отдельных форм хромосомных поломок были иными. В частности, воздействие ТЗЧ приводило к образованию большего количества аберрантных митозов, чем при воздействии рентгеновских лучей. Частота их зависела от дозы, вида и энергии излучений. При облучении в дозах от 5 до 100 сГр зависимость проявления эффекта от дозы характеризовалась простой экспонентой, что свидетельствует об одноударной природе регистрируемых событий. При воздействии более высоких доз ТЗЧ дозовая зависимость приобретает более сложный степенной вид.

Значительные различия в эффектах имели место при фракционированном действии ТЗЧ и рентгеновских лучей. В частности, при двукратном облучении рентгеновскими лучами 180 кВ, ионами гелия с энергией 4,6 ГэВ/нуклон и протонами 25 МэВ отмечался более низкий выход клеток с хромосомными абберациями ($p < 0,05$), чем в случае однократного облучения. Такое изменение эффекта при фракционированном воздействии обычно связывают с репарацией радиационных повреждений хромосом или с элиминацией клеток, содержащих эти повреждения. Однако в аналогичных исследованиях с облучением роговицы экспериментальных животных *in vivo* ускоренными ионами гелия, бора и углерода с энергиями до 10 МэВ/нуклон достоверных различий в эффектах однократного и фракционированного облучения не выявлено (рис. 12). Отсутствие снижения эффекта при фракционированном облучении тяжелыми ионами низких энергий обусловлено аддитивностью влияния отдельных фракций облучения на фоне резко замедленных процессов постлуче-

вой репарации. Это подтверждается результатами специально проведенного исследования, в котором была прослежена динамика основных цитогенетических изменений [5]. Большое количество клеток с aberrантными митозами сохранялось в течение всего шестимесячного периода наблюдения. В противоположность этому, при воздействии рентгеновскими лучами в значительно более высоких дозах частота aberrантных митозов практически не отличалась от контрольного уровня у интактных животных. Через 6 месяцев после облучения ионами ^{11}B и ^{12}C в дозе 25 сГр частота aberrантных митозов была приблизительно в три раза большей, чем при аналогичном облучении

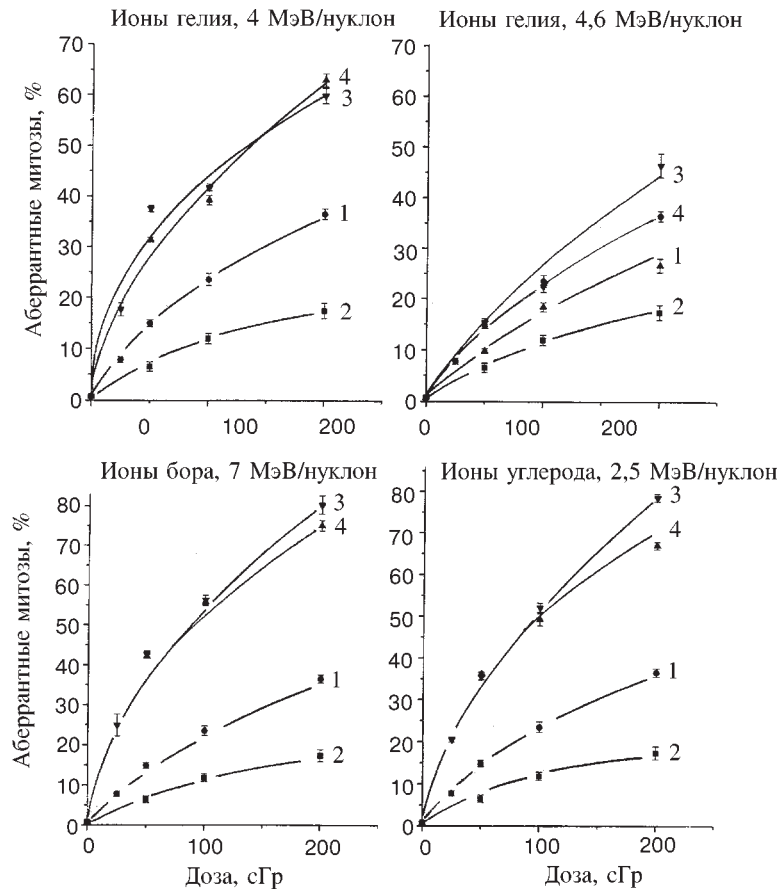


Рис. 12. Цитогенетические изменения в клетках эпителия роговицы мышей через 24 часа после однократного (1,3) и фракционированного (2,4) облучения стандартным излучением (1,2) и тяжелыми ионами (3,4)

рентгеновскими лучами в дозе 500 сГр. Сопоставление доз, при воздействии которых спустя 6 месяцев после облучения количество аберрантных митозов составляет 4,5%, показало, что значения коэффициентов ОБЭ ионов бора и углерода достигали 80—100.

Резкое замедление процессов восстановления постлучевых нарушений вплоть до полного их отсутствия при действии ТЗЧ связано с нарушением естественного продвижения клеток роговицы от базального слоя к ее поверхности в процессе их развития. Это подтверждается анализом количества клеток эпителия, число которых в результате длительной задержки аберрантных митозов снижалось со 180 до 42 к концу шестимесячного периода наблюдения.

В экспериментах с культурой лимфоцитов крови человека *in vitro* эффект фракционирования дозы ионов гелия был различен в зависимости от использованных показателей и уровня доз. Так, по числу образования аберрантных клеток не отмечалось статистически значимого различия в случаях однократного и фракционированного облучения ионами гелия. Разделение дозы 4 Гр на две равные фракции с интервалом три часа между ними приводило к снижению количества aberrаций по сравнению с однократным облучением. Однако при более низком уровне доз ионов гелия эффект фракционирования отсутствовал или был существенно выше по сравнению с однократной дозой [60, 61].

Проведенный анализ показывает, что различия между значимыми изменениями при однократном и повторном облучении в высоких дозах обусловлены степенью поражения клетки. Как видно из табл. 6, частота аберрантных клеток после однократного и фракционированного облучения ионами гелия одинакова, вместе с тем число aberrаций хромосом на 100 клеток существенно различается. Число aberrаций на одну аберрантную клетку при однократном облучении в дозах 4 и 5 Гр равно, соответственно, 4,2 и 6,9, а при фракционированном облучении — 2,6 и 4,5. Столь значительный уровень частоты aberrаций хромосом связан с высоким уровнем использованных доз ионов гелия. Разница в числе aberrаций, приходящихся на одну аберрантную клетку при фракционированном облучении в обеих дозах оказалась в 1,6 раза меньше, чем при однократном. После однократного облучения значительно чаще встречались клетки, содержащие 3 и больше дицентриков, чем в случае дробного облучения.

В отличие от ионов гелия при фракционированном облучении лимфоцитов крови человека протонами с энергией 9 ГэВ с интервалом между фракциями два часа различия в эффектах однократного и дробного воздействия отмечались по частоте хромосомных фрагментов и общему числу aberrаций. Они выражались в некотором снижении радиобиологического эффекта при фракционированном воздействии.

Таблица 6. Аберрантные митозы и частота аберраций хромосом в лимфоцитах крови человека при воздействии ионов гелия с энергией 4 ГэВ/нуклон после однократного и фракционированного облучения

Доза, Гр	Число аберрантных клеток, %	Частота аберраций, %
1,0 (0,5+0,5)	36,0±3,5 (31,0±3,2)	51,3±4,1 (40,5±3,7)
2,0 (1,0+1,0)	44,5±4,7 (56,5±5,7)	94,0±6,9 (106,0±7,1)
4,0 (2,0+2,0)	95,0±6,8 (93,3±6,5)	418,0±14,5 (257,3±11,5)
5,0 (2,5+2,5)	100,0±5,8 (100,0±5,8)	691,3±15,2 (452,5±15,6)
Контроль	3,0±1,2	3,0±1,2

Таким образом, фракционированное облучение нестимулированных лимфоцитов крови человека ускоренными ионами гелия и протонами релятивистских энергий в сублетальных дозах приводит к снижению радиационного поражения, которое обусловлено различной степенью поражения самой клетки. При более низких дозах облучения эффект фракционирования отсутствует или выражен слабо.

В этой связи представляет интерес исследование динамики клеточности костного мозга бедренной кости мышей, облученных ионами гелия, протонами и гамма-лучами [61]. Кривая зависимости числа гемопоэтических клеток от сроков наблюдения после радиационного воздействия имеет фазный характер, как это характерно и для стандартного излучения. Можно выделить фазу опустошения и фазу восстановления количества костномозговых клеток. Максимальная степень снижения кариоцитов имела место в первые трое суток после облучения животных и в большей степени была выражена после воздействия ускоренных релятивистских ядер по сравнению с гамма-облучением. Отсутствие статистически значимых различий в эффектах максимального клеточного опустошения костного мозга в этом случае можно объяснить близкими значениями ЛПЭ ионов гелия и протонов. Не оказывала существенного влияния на биологический эффект и мощность дозы ионов гелия. Темп восстановления костномозгового кроветворения существенно не отличался после облучения ионами гелия и гамма-лучами, но значительно отставал в случае облучения протонами. В частности, количество кроветворных клеток после облучения ионами гелия и гамма-лучами практически восстанавливалось к 7—10 суткам послелучевого периода, тогда как после облучения протонами к этому сроку количество клеток достигало лишь половины контрольных значений, а полностью восстанавливалось к концу месяца.

Процесс восстановления протекал по экспоненциальному закону с двумя периодами, соответствующими быстрой и медленной компоненте. Период полувосстановления $T_{1/2}$ для быстрой компоненты для ионов гелия и гамма-лу-

чей составлял 2,5 сут, а после облучения протонами — 4,5 сут. Значение $T_{1/2}$ для медленной компоненты при облучении ионами гелия и гамма-лучами было равно 13,5 сут. Более быстрое восстановление костномозгового кровообращения после воздействия ионов гелия по сравнению с протонами не вполне ясно. При изучении цитогенетических нарушений в культуре лимфоцитов донорской крови, облученной ионами гелия в дозе 4 Гр, установлено, что почти все клетки имели аберрантные митозы, тогда как при воздействии протонами и гамма-лучами в аналогичной дозе количество таких клеток составляло около 80%. После облучения ионами гелия встречалось большое количество клеток с множественными абберациями хромосом (6 и более) [5]. О более глубоких повреждениях на уровне клетки и существенном снижении процессов внутриклеточной репарации свидетельствуют результаты изучения выживаемости клеток китайского хомячка в культуре [62]. Кривая доза — эффект выживаемости клеток китайского хомячка после облучения ионами гелия имеет экспоненциальный характер с отсутствием плеча, характерного для редкоионизирующих излучений. Облученные ионами гелия клетки обладают пониженной способностью к пострадиационной репарации и, возможно, что это может компенсироваться усилением ее на популяционном уровне.

Степень повреждения клеток после облучения протонами выражена в меньшей степени, чем после воздействия ионов гелия. Реже встречаются клетки с множественными абберациями. Вместе с тем регенераторный потенциал поврежденных клеток недостаточен для восстановления всей популяции.

ОТНОСИТЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСКОРЕННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ РАЗЛИЧНЫХ ЭНЕРГИЙ

Проблема относительной биологической эффективности (ОБЭ) ускоренных заряженных частиц является основной в радиобиологии излучений различного качества. Это определяется широким кругом практических задач, решаемых в радиобиологии и близких к ней науках. В частности, с развитием космических исследований возникла задача обеспечения радиационной безопасности при космических полетах. Накопленный опыт показывает, что при космических полетах, осуществляемых на относительно низких орбитах, потоки космической радиации довольно низкие (около $2,5 \text{ част./см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$) и поэтому не представляют серьезной опасности для здоровья экипажей космических кораблей [63]. Однако ситуация может существенно измениться при межпланетных полетах. В этих условиях сложная и неоднозначная зависимость ОБЭ излучений от многочисленных факторов физической и биологической природы не потеряла своей актуальности до сих пор.

Как известно, для сравнительного изучения биологического действия различных видов ионизирующих излучений в радиобиологии используется понятие относительной биологической эффективности. Большое значение ОБЭ имеет в системе обеспечения радиационной безопасности при космических полетах, а также при полетах реактивных самолетов на большой высоте в связи с установлением нормативных уровней облучения. В числовом выражении ОБЭ характеризуется коэффициентом, который определяется как отношение доз стандартного и изучаемого излучений, вызывающих одинаковый эффект:

$$K_{\text{ОБЭ}} = \frac{\text{Доза стандартного излучения}}{\text{Доза исследуемого излучения, вызывающая тот же эффект}}$$

В качестве стандартного излучения обычно используются рентгеновские лучи (180 кВ) или гамма-излучение [64, 65].

Проведенные исследования цитогенетических нарушений в клетках эпителия роговицы позволили прийти к заключению об идентичном характере нарушений генетического аппарата клеток при действии протонов в диапазоне энергий 50 ÷ 645 МэВ и стандартного излучения и равной относительной биологической эффективности этих излучений. Коэффициенты ОБЭ, вычисленные на основании сопоставления доз, при воздействии которых у 37% делящихся клеток отсутствовали хромосомные аберрации, через 24 часа после облучения для протонов этих энергий не превышали 1, тогда как для протонов с энергией 25 МэВ коэффициент ОБЭ по данному показателю составлял 1,6 (табл. 7). Таким образом, величина коэффициентов ОБЭ зависит от ЛПЭ протонов. Это согласуется с результатами многочисленных исследований ОБЭ протонов широкого энергетического спектра, представленных в обзорах [32, 66].

При действии тяжелых заряженных частиц вследствие различий в интенсивности процессов репарации радиационных нарушений и более высоких повреждающих способностей, обусловленных, преимущественно, ЛПЭ, имеет место увеличение значений коэффициентов ОБЭ. Кривая зависимости коэффициентов ОБЭ тяжелых ионов от их ЛПЭ, полученная при изучении цитогенетических нарушений в клетках эпителия роговицы экспериментальных животных, отражает классические представления о зависимости ОБЭ от ЛПЭ тяжелых частиц, постулирующие возрастание ОБЭ с увеличением ЛПЭ примерно до 100—200 кэВ/мкм (рис. 13). При дальнейшем увеличении ЛПЭ происходит снижение коэффициентов ОБЭ тяжелых ядер, связанное, по-видимому, с особенностями микродозиметрического распределения поглощенной энергии [67, 68]. Аналогичная зависимость ОБЭ от ЛПЭ излучений получена в экспериментах на клетках млекопитающих в культуре и других объектах [37, 58, 69]. По-видимому, выявленная закономерность обусловлена неравномерным распределением поглощенной энергии в облучаемом объекте при воздействии тяжелых ионов, следствием которого является большее выделение энергии, чем это необходимо для инактивации клетки.

Таблица 7. Значения коэффициентов ОБЭ протонов и тяжелых ионов, полученные на основании изучения цитогенетических нарушений в биологических объектах

Вид и энергия излучения	ЛПЭ, кэВ/мкм	Объект	Исследуемый эффект	Кэф. ОБЭ	Ссылка
Протоны, 660 МэВ	0,25	Крысы	Скрытые хромосомные повреждения	0,7	[26]
		Дрозофила	Рецессивные мутации	1,0	[20]
Протоны, 645 МэВ	0,25	Амниотич. клетки человека	Частота хромосомных aberrаций, митотическая активность	1,0	[73]
		Крысы	Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга	0,7	[74]
		Лимфоциты человека	Частота aberrантных митозов, хромосомных aberrаций	1,0	[75]
		Мыши, эпителий роговицы	Частота aberrантных митозов	0,73	[57]
Протоны, 510 МэВ	0,28	Крысы	Частота доминантных леталей	0,7	[76]
Протоны, 126 МэВ	0,62	Крысы	Содержание делящихся клеток в костном мозге через 24 часа после облучения	0,8	[25]
			Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга через 24 часа после облучения	0,7	[25]
		Эмбрион. фибробласты человека	Частота хромосомных aberrаций через 24 часа после облучения	0,7	[77]
Протоны, 50 МэВ	1,26	Крысы	Митотическая активность клеток костного мозга, частота хромосомных aberrаций через 24 ч после облучения	1,1	[74]
			Опустошение костного мозга через 24 ч после облучения	1,3	
		Мыши, эпителий роговицы	Частота хромосомных aberrаций через 24 ч после облучения	1,3	[78]
			Снижение митотического индекса через 24 ч после облучения	1,5	

Вид и энергия излучения	ЛПЭ, кэВ/мкм	Объект	Исследуемый эффект	Коэф. ОБЭ	Ссылка
Протоны, 50 МэВ	1,26	Лимфоциты человека	Число aberrантных митозов и хромосомных aberrаций	1,0	[75]
		Мыши	Частота хромосомных aberrаций в клетках эпителия роговицы (D_{37})	1,6	[78]
Протоны, 25 МэВ	2,14	Лимфоциты человека	Число aberrантных митозов	1,2	[79]
^{11}B , 7,5 МэВ/нуклон	155	Мыши, эпителий роговицы	Общее число aberrаций хромосом, разрывы хромосом	1,0	[71,72]
			Частота aberrантных митозов	1,1	
			Частота хромосомных aberrаций	0,8	
			Частота парных ацентрических фрагментов	1,3	
			Частота хромосомных aberrаций	4,6	
		Мыши, эпителий роговицы	Снижение митотического индекса	4,0	
Частота aberrантных митозов	4,65				
^{12}C , 2,5 МэВ/нуклон	428	Крысы	Частота aberrантных митозов в клетках печени	4,6	[71]
^{12}C , 2,5 МэВ/нуклон	230	Лимфоциты человека	Частота aberrантных митозов	1,3	[80]
^{22}Ne , 6 МэВ/нуклон	632	Мыши, эпителий роговицы	Общее число aberrаций	1,3–2,1	[71,72]
			Разрывы хромосом	1,0–1,9	
			Частота aberrантных митозов	1,3	
			Частота парных ацентрических фрагментов	2,4	
Частота aberrантных митозов	2,2				

На значения коэффициентов ОБЭ большое влияние оказывает уровень радиационного поражения, зависящий от дозы, используемый в качестве критерия оценки биологической эффективности излучения (рис. 14). При снижении уровня повреждения происходит увеличение коэффициентов ОБЭ. Это отчетливо проявляется как после однократного, так и после фракционированного облучения тяжелыми ионами (табл. 8).

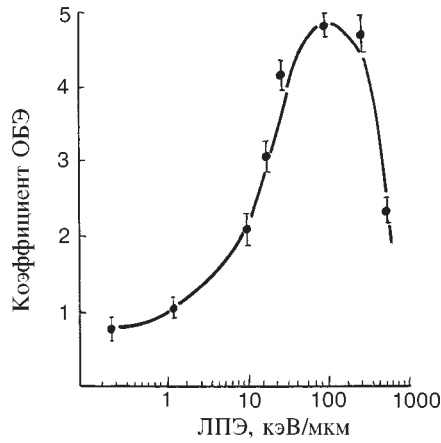


Рис. 13. Зависимость коэффициентов ОБЭ тяжелых ионов от их ЛПЭ

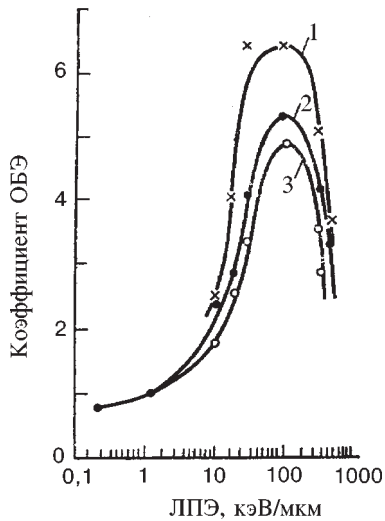


Рис. 14. Зависимость коэффициентов ОБЭ от ЛПЭ тяжелых ионов при разном уровне доз, вызывающих 20%-ный (1), 50%-ный (2) и 63%-ный (3) уровни повреждения хромосом клеток эпителия роговицы мышей

Сопоставление результатов изучения биологической эффективности ионов гелия с энергией 4,0; 6,0 и 9,7 МэВ/нуклон и рентгеновских лучей показало, что при всех эквивалентных дозах взаимодействующих частиц отмечается увеличение частоты образования аберрантных митозов также со снижением энергии частиц на нуклон, что, в свою очередь, приводит к увеличению коэффициентов ОБЭ (рис. 15) [70].

Таким образом, анализ результатов изучения цитогенетических эффектов в клетках млекопитающих позволил прийти к заключению о том, что при облучении биологических объектов протонами в диапазоне энергий 50 ÷ 660 МэВ и стандартным излучением сохраняется единый характер развития поражений наследственного аппарата клеток, а коэффициенты ОБЭ протонов в данном диапазоне энергий равны единице или незначительно отличаются от этого уровня (табл. 8). Этот вывод подтверждается многочисленными исследованиями при оценке реакции различных тканей, органов и систем, обусловленных протонами высоких энергий. Важная особенность полученных значений коэффициентов ОБЭ — это их устойчивое постоянство независимо от условий облучения биологических объектов и других факторов.

Более высокие значения коэффициентов ОБЭ характеризуют биологическое действие тяжелых ионов относительно низких энергий (табл. 7). Величина их зависит от дозы, ЛПЭ, длительности интервала времени, прошедшего после воздействия излучений и других факторов [32, 71, 72].

Таблица 8. Коэффициенты ОБЭ ионов гелия и бора по критерию частоты хромосомных aberrаций в клетках эпителия роговицы мышей после однократного и фракционированного облучения

Вид излучения	Характер воздействия	Коэффициенты ОБЭ при 20, 50 и 63 % уровне повреждения		
		D_{20}	D_{50}	D_{63}
^{11}B	однократное	$6,6 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,4$
$^{11}\text{B}^*$	фракционированное	$13,8 \pm 1,5$	$7,3 \pm 0,8$	$5,8 \pm 0,7$
^2He	однократное	$2,7 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$
$^2\text{He}^*$	фракционированное	$5,0 \pm 0,6$	$4,4 \pm 0,6$	—

*Интервал между облучениями 24 часа.

Высокие значения коэффициентов ОБЭ получены также для ускоренных заряженных частиц релятивистских энергий. Для уровней доз протонов с энергией 9 ГэВ, ионов гелия и углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон, вызывающих образование aberrантных клеток у 20, 30, 50 и 63% делящихся клеток, коэффициенты ОБЭ составляли от 1,8 до 3,3 (табл. 9). С увеличением дозы заряженных частиц величина коэффициентов ОБЭ снижалась [40]. Несколько ниже оказались коэффициенты ОБЭ ускоренных релятивистских ядер, вычисленные при использовании доз излучений, приводящих к образованию 50% aberrантных клеток, общего числа aberrаций хромосом и отдельных видов хромосомных нарушений в культуре лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* (табл. 10). В зависимости от вида излучения и критериев оценки цитогенетических нарушений коэффициенты ОБЭ колебались в пределах $1,3 \div 1,9$ [40]. Они близки к значениям коэффициентов ОБЭ ионов азота с энергией 3,9 ГэВ/нуклон, полученным при оценке выживаемости клеток человека и опухолевых клеток у мышей в остром периоде после облучения [82].

Более высокими оказались коэффициенты ОБЭ ионов углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон, рассчитанные по 5 и 10%-ному уровню цитогенетических нарушений в культуре лимфоцитов крови человека. Усредненные значения коэффициентов ОБЭ ионов углерода данной энергии равны 2,5 и 2,8 соответственно уровням повреждения.

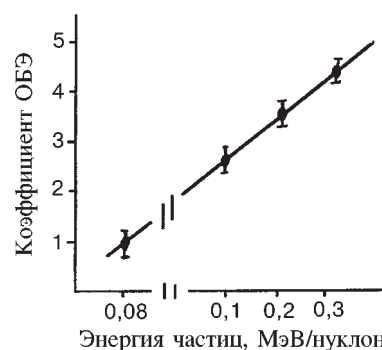


Рис. 15. Зависимость относительной биологической эффективности тяжелых заряженных частиц от их энергии на нуклон

Таблица 9. Коэффициенты ОБЭ ускоренных заряженных частиц релятивистских энергий, полученные при изучении частоты хромосомных aberrаций в клетках эпителия роговицы мышей в зависимости от уровня повреждения

Вид излучения	Уровень повреждения, %			
	D_{20}	D_{30}	D_{50}	D_{63}
Протоны	$2,0 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$
Ионы гелия	$3,3 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$
Ионы углерода	$2,9 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,1$	–	–

Таблица 10. Коэффициенты ОБЭ заряженных частиц релятивистских энергий, рассчитанные с использованием частоты цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови человека

Биологический тест	Коэффициенты ОБЭ		
	ионов гелия, 4 ГэВ/нуклон	протонов, 9 ГэВ	дейтронов, 4 ГэВ/нуклон
Число aberrантных клеток	$1,8 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,2$
Общее число aberrантных клеток	$1,7 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$
Число парных ацентрич. фрагментов	$1,4 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$
Число дицентриков и колец	$1,9 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,2$
Усредненные значения коэфф. ОБЭ	$1,7 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,2$

Таким образом, материалы проведенных исследований свидетельствуют о наличии существенных качественных и количественных различий в развитии эффектов, вызванных тяжелыми частицами и стандартным излучением: различные частота и степень репарируемости радиационных нарушений, образование большого количества обменных aberrаций при действии ТЗЧ. Специфические особенности биологического действия тяжелых заряженных частиц в значительной степени, по-видимому, определяются их способностью вызывать большее количество прямых двунитевых разрывов ДНК, тогда как при действии гамма-излучения двунитевые разрывы имеют, в основном, ферментативную природу. Поскольку репарация последних происходит более активно, то и восстановление клеток от повреждений осуществляется более эффективно при действии редкоизирующих излучений [80]. Репарационные способности облученных клеток снижаются при увеличении количества поглощенной энергии, приходящейся на одно событие попадания в чувствительный объем клетки. Можно найти функцию $R(Z_v)$, отражающую степень репарации пострадиационных нарушений с глубиной повреждаемости клеток

(Z — количество энергии в мишени объемом V). Форма этой функции зависит от генотипа клеток. Более сложная организация генома клеток высших млекопитающих определяет и более сложные радиобиологические эффекты этих клеток, обусловленные воздействием излучений с различными ЛПЭ [68]. Это приводит к неоднозначности коэффициентов ОБЭ, их зависимости от физических и биологических факторов [32]. Слабые репарационные возможности клеток, облученных тяжелыми заряженными частицами, приводят к значительному увеличению коэффициентов ОБЭ в отдаленные сроки после облучения. В частности, коэффициенты ОБЭ ускоренных ионов углерода с энергией 4,7 МэВ/нуклон, рассчитанные по критерию частоты образования aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 часа и три месяца после облучения, возросли от 4,2 до 11,0 соответственно [35, 81].

ВЛИЯНИЕ КОСМИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТУ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОСМОНАВТОВ

В связи с проблемой обеспечения радиационной безопасности при межпланетных полетах вопросы оценки опасности воздействия относительно небольших доз космического излучения для организма человека приобретают большую актуальность [67, 83].

В последние годы анализ нестабильных aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека широко используется в качестве основного метода биологической дозиметрии, позволяющего на основе выявленных цитогенетических нарушений провести ретроспективную оценку доз ионизирующего излучения [84—86]. Проведенные нами исследования частоты и видов aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов крови космонавтов в пред- и послеполетном периодах позволили прийти к заключению о возможности использования метода цитогенетического контроля для идентификации воздействия космического излучения [87—90]. Исследования *in vivo* в наибольшей степени отвечают задачам биологической дозиметрии и индикации воздействия космических излучений. В связи с высокой мобильностью лимфоцитов в кровеносном русле, распределением лимфатических узлов по всему организму, длительным сохранением хромосомных нарушений после воздействия ионизирующих излучений средняя доза облучения лимфоцитов дает представление о дозе, полученной всем организмом [91].

Цитогенетические исследования предусматривали выяснение качественных и количественных особенностей развития цитогенетических нарушений в культуре лимфоцитов крови космонавтов, обусловленных космическим излучением, и сравнительный анализ полученных данных с результатами цитогенетических исследований лимфоцитов донорской крови в экспериментах на ускорителях *in vitro*.

Исследования проведены у 24 космонавтов после однократных и повторных длительных полетов. У 14 из них изучен спонтанный уровень хромосомных нарушений. В работе использованы стандартные методы культивирования лимфоцитов и анализа хромосомных нарушений. Дозиметрические измерения на борту орбитальной станции «Мир» проводились с помощью штатного радиометра Р-16 [92] и индивидуальных термолюминесцентных дозиметров ИД-3М [93].

Частота и виды aberrаций хромосом в лимфоцитах здорового человека. Установлено, что в лимфоцитах практически каждого здорового человека, не подвергавшегося воздействию ионизирующего излучения, содержится определенное количество хромосомных aberrаций. Их число зависит от многих факторов, включая курение, потребление алкоголя, возраст, условия культивирования лимфоцитов и т.д. Несмотря на некоторые противоречия и отсутствие единого мнения о средних значениях частоты клеток с aberrациями хромосом, установлено, что частота спонтанных хромосомных нарушений — величина постоянная, которая не зависит от пола, но зависит от возраста. Количество aberrантных клеток у практически здоровых людей варьирует от 0 до 5%, составляя в среднем в возрасте 20—40 лет около 1%, увеличиваясь к 40—50 годам до 1,5% [51]. По другим данным количество aberrантных клеток колеблется от 2% после рождения до 4% в 75-летнем возрасте, а в 25—40 лет оно достигает примерно 3% [94]. Характерно, что в лимфоцитах здорового человека 95% от общего числа aberrаций составляют одиночные и парные фрагменты. В среднем приходится примерно 0,01—0,02 спонтанных АХ на одну aberrантную клетку, а все aberrантные клетки содержат не более одной aberrации [51]. Достаточно низкими значениями характеризуется спонтанный уровень дицентриков и центрических колец. Так, по данным [95] спонтанный уровень дицентриков у женщин 50—59 и 60—70 лет составлял 0,16 и 0,26 %, а у мужчин в возрасте 20—29 и 30—39 лет он был еще ниже и составлял 0,03 и 0,07 % соответственно.

Частота дицентриков у лиц, не подвергавшихся воздействию ионизирующего излучения, может варьировать от 0 до $2,35 \cdot 10^{-3}$ на клетку [96]. Средние значения частоты дицентриков находятся в пределах $(0,3 \div 0,5) \cdot 10^{-3}$. Проанализировав данные по частоте дицентриков в контрольных группах доноров, полученные в 65 различных лабораториях, Lloyd et al. [97] установили, что средний уровень этого вида aberrаций составляет $0,55 \cdot 10^{-3}$ на клетку. При формировании контрольной группы в случае проведения цитогенетического обследования пострадавших во время Чернобыльской аварии найдено, что у людей, которые не имели контакта с ионизирующим излучением, а также не подвергались терапевтическим и серьезным диагностическим облучениям, частота дицентриков и центрических колец составляла 0,2 на 1000 клеток. Исследование включало изучение частоты aberrаций нестабильного типа (ди-

центриков и центрических колец) с использованием традиционного метода и анализ стабильных aberrаций хромосом (симметричных транслокаций) с использованием FISH-техники [98, 99].

Частота дицентриков растет линейно с возрастом на $1,70 \cdot 10^{-4}$ на клетку каждые 10 лет [100]. Это свидетельствует о том, что получение объективных данных, характеризующих спонтанный уровень дицентриков и центрических колец в изучаемой популяции, является необходимым условием индикации облучения.

Хромосомные перестройки, обусловленные редкоизирующим излучением. Согласно классическим представлениям об образовании хромосомных aberrаций, облучение клеток в стадиях G_0 и G_1 клеточного цикла приводит к образованию aberrаций хромосомного типа (дицентриков и центрических колец), тогда как облучение клеток в S- и G_2 -фазах митотического цикла вызывает образование aberrаций хроматидного типа. Как известно, почти все лимфоциты в организме здорового человека находятся в G_0 -стадии, то есть их можно считать синхронизированной культурой [101]. Вместе с тем имеются сообщения о повышении частоты и хроматидных aberrаций у лиц, проживающих в экологически неблагоприятных регионах [102], которые, вероятно, обусловлены влиянием химических факторов. У жителей, проживающих на радиационно-загрязненных территориях, не выявлено различий в частоте aberrаций хроматидного типа у лиц контрольной и опытной групп [103].

Для оценки дозы ионизирующего излучения используют значение средней частоты дицентриков и центрических колец в стимулированных фитогемагглютинином культурах лимфоцитов, что обусловлено низким спонтанным уровнем дицентриков, относительной легкостью их идентификации и дозозависимым увеличением их частоты после воздействия ионизирующих излучений [51, 104].

Важное значение для индикации облучения имеет характер распределения aberrаций по клеткам. Как мы уже указывали выше, при равномерном тотальном облучении редкоизирующим излучением распределение AX по клеткам соответствует распределению Пуассона. Отклонение от этого распределения свидетельствует о неравномерном характере облучения. В эксперименте показано, что даже при дозе 100 сЗв редко встречаются клетки с двумя дицентриками и кольцами. Большинство клеток с такими AX имели по одной aberrации [103]. С повышением уровня воздействующих доз редкоизирующего излучения количество обменных aberrаций в клетках увеличивается в соответствии с экспоненциальной зависимостью.

Необходимо учитывать соотношение между отдельными типами AX и их частоту по поколениям клеток, поскольку по мере прохождения клетками митотического цикла происходит постепенная элиминация клеток, содержащих хромосомные поломки. Исследования частоты и количественных харак-

теристик хромосомных аберраций у пациентов онкологической клиники в различные сроки после курса лучевой терапии показали, что в течение первых 3—5 лет после окончания курса терапии содержание абберрантных клеток и количества аберраций хромосом снижается в 2 и 2,4 раза соответственно. В последующем их уровень медленно стабилизируется, оставаясь повышенным по сравнению с фоном в 5—6 раз [105] фактически до конца жизни. Из-за элиминации клеток с нестабильными аберрациями оценка индивидуальных доз облучения по нестабильным аберрациям хромосом становится проблематичной. Для ретроспективного определения дозы ионизирующих излучений необходимо соблюдение по крайней мере двух основных условий: однократное, относительно равномерное кратковременное облучение и взятие крови для цитогенетического анализа в возможно короткие сроки после его окончания [103]. Для условий низкоинтенсивного хронического, пролонгированного или фракционированного облучения отсутствуют калибровочные кривые, по которым можно было бы определить поглощенные дозы. Их нельзя получить из-за невозможности провести необходимые исследования на лимфоцитах *in vitro*. А использование существующих кривых для случаев острого облучения может привести к ошибочным результатам. Поэтому на данном этапе работы при анализе нестабильных аберраций хромосом в лимфоцитах крови космонавтов правильнее говорить не о биодозиметрии в прямом смысле слова, а о биоиндикации радиационного воздействия.

При хроническом облучении наблюдаемый уровень АХ является результатом двух составляющих: повышения частоты АХ за счет их возникновения в результате воздействия ионизирующих излучений и снижения частоты вследствие элиминации нестабильных аберраций хромосом [106]. Поскольку экспериментальное воспроизведение этого процесса *in vitro* невозможно, источником сведений об уровнях повреждения хромосом при хронических воздействиях являются наблюдения за профессиональными контингентами. Полученные на основе таких наблюдений результаты позволили прийти к заключению о том, что в большинстве проведенных исследований установлено повышение средних уровней АХ даже при облучении в пределах допустимой дозы (0,05 Зв). Это повышение чаще всего происходит за счет увеличения аберраций хромосомного типа. При наличии достоверных отличий от фонового уровня отсутствовала коррелятивная связь частоты цитогенетических нарушений с дозой или, если она наблюдалась, то могла носить как линейный, так и сложный немонотонно возрастающий характер [106]. В то же время зависимость от дозы отчетливо проявлялась или только для аберраций обменного типа, или для общего числа всех АХ. Характерны также высокие индивидуальные различия частоты АХ у отдельных лиц со сходными уровнями облучения.

Для случаев хронического облучения также предложены различные подходы для оценки дозы с целью биодозиметрии, однако они не нашли достаточного применения главным образом из-за необходимости введения многих поправочных коэффициентов, что в конце концов приводит к невысокой надежности получаемых результатов. В определенной мере это относится и к предложению использовать для определения индивидуальной дозы при хроническом облучении переходный коэффициент 2—3 [107].

Следует отметить, что в последние годы все более широкое распространение приобретает оценка доз ионизирующих излучений на основе анализа стабильных АХ — симметричных транслокаций, частота которых остается постоянной в течение длительного времени после облучения (месяцы, годы). Для этой цели используется флюоресцентный метод окрашивания после гибридизации *in situ* метафазных препаратов с хромосом-специфичными ДНК-пробами (FISH-метод). Исследования показали, что частота возникновения аберраций стабильного и нестабильного типов после воздействия излучений с низкой ЛПЭ одинакова [108].

Анализ частоты стабильных аберраций с использованием FISH-метода имеет важное значение для ретроспективной оценки доз облучения. Результаты проведенных исследований свидетельствуют об адекватности данного метода поставленным задачам [109, 110]. К сожалению, из-за его высокой стоимости он недостаточно распространен в России.

Особенности цитогенетического действия ускоренных заряженных частиц. Многочисленные исследования цитогенетических нарушений в клетках млекопитающих, включая и лимфоциты крови человека *in vitro*, установили ряд особенностей биологического действия ТЗЧ. Как показано выше, некоторые из них носят фактически специфический характер. В частности, повреждения хромосом после воздействия ТЗЧ всегда имеют более сложный характер по сравнению с аберрациями хромосом, обусловленными редкоизирующим излучением.

В экспериментах с облучением лимфоцитов крови человека в культуре [41] показано, что частота aberrантных метафаз после воздействия гамма-излучения увеличивалась с дозой согласно линейно-квадратичной зависимости, тогда как после облучения протонами высокой энергии кривая зависимости доза — эффект имела характер кривой с насыщением. Линейный характер зависимости доза — эффект сохранялся лишь до уровня дозы 1,5—2,0 Гр, далее кривая этой зависимости отклонялась от линейности в сторону снижения числа поврежденных клеток. Иначе говоря, имеет место феномен максимума мутаций [111]. Такой же характер зависимости числа клеток с АХ в лимфоцитах периферической крови человека от дозы получен после воздействия ускоренных ионов гелия с энергией 4 ГэВ/нуклон. Важной особенностью цитогенетических нарушений является более высокая эффективность ТЗЧ по отно-

шению к гамма-излучению и зависимость развивающихся эффектов от ЛПЭ излучений.

Клетки, поврежденные ТЗЧ, в отличие от стандартного излучения, обычно содержат большее число хромосомных повреждений, приходящихся на одну аберрантную клетку, а также на клетку в расчете на единицу дозы (Гр), а сравнительный анализ эмпирического распределения аббераций по клеткам (по Пуассону) выявил различный характер распределения числа аббераций хромосом в клетках при действии заряженных частиц и гамма-лучей ^{60}Co [49]. И наконец, действие тяжелых заряженных частиц характеризуется высоким выходом аббераций хромосом обменного типа (дицентриков и колец). В соответствии с этим изменялись отношения общего числа двухударных аббераций к одноударным, а также дицентриков и колец к парным ацентрическим фрагментам. По механизму своего возникновения такие АХ являются преимущественно двухударными [80].

Многочисленные исследования свидетельствуют также о замедленном процессе восстановления клеток от повреждения хромосом, обусловленных ТЗЧ, об отсутствии защитного влияния известных радиопротекторов и кислородного эффекта.

Коэффициенты ОБЭ тяжелых ионов различных энергий выше по отношению к стандартному излучению. Как видно из представленных выше материалов, они определяются физическими и биологическими факторами.

Влияние рентгенодиагностических процедур на уровень хромосомных аббераций в лимфоцитах человека. Наиболее широко население подвергается воздействию ионизирующего излучения в низких дозах во время рентгенодиагностических обследований. Имеющиеся в литературе сведения позволяют оценить дозы ионизирующего излучения у пациентов при основных видах рентгенодиагностических процедур [112]. В значительной степени дозовая нагрузка определяется режимом проведения процедуры. Так, удельные поглощенные дозы рентгеновского излучения во внутренних органах при обзорной рентгенографии черепа могут колебаться от 0,13 до 5,5 мкЗв, а грудного отдела позвоночника — от 2,2 до 75,0 мкЗв. Дозы рентгеновского излучения при локальных обследованиях обычно не превышают 0,5—2,0 сГр. Однако на практике нередки случаи неоднократных повторных исследований в различных проекциях одного и того же объекта, что, естественно, приводит к повышению индивидуальных доз рентгеновского излучения. Между тем возрастание числа хромосомных аббераций у людей отмечается уже при дозе 0,7 Р, полученной во время рентгеновского обследования пациента [113]. При хроническом воздействии ионизирующих излучений в дозах, близких к естественному фону и предельно допустимым дозам, изменения частоты цитогенетических нарушений связаны с мощностью дозы, то есть они не зависят от

величины суммарной дозы облучения. С повышением дозы облучения значительно увеличивается вероятность возникновения неблагоприятных последствий воздействия ионизирующих излучений, в том числе генетических нарушений в делящихся клетках. В частности, при накоплении суммарных доз порядка 20—70 бэр установлено снижение способности *T*-лимфоцитов к бласттрансформации, указывающее на изменение клеточного иммунитета [114], увеличение частоты хромосомных aberrаций и др.

В целом на основании имеющихся литературных данных очевидно, что метод анализа нестабильных aberrаций хромосом в лимфоцитах крови человека, широко используемый в нашей стране после аварии на Чернобыльской АЭС, отвечает задаче ретроспективной оценки доз ионизирующих излучений. Однако он более пригоден для случаев однократного относительно кратковременного облучения, тогда как использование его с целью определения дозы излучения после хронического, фракционированного или пролонгированного лучевого воздействия затруднительно. Для этой цели необходимо, с одной стороны, накопление необходимого массива данных о влиянии космической радиации на организм космонавтов, а с другой — построение калибровочных кривых для отдельных составляющих космического излучения широкого энергетического спектра на основании исследований цитогенетических нарушений хромосомного аппарата в лимфоцитах человека *in vitro* после облучения ускоренными заряженными частицами. Для целей биологической дозиметрии необходимо использовать метод флюоресцентной *in situ* гибридизации лимфоцитов, позволяющий выявлять стабильные aberrации хромосом, тогда как анализ нестабильных aberrаций хромосом в большей степени отвечает задачам индикации космических излучений.

Спонтанный уровень хромосомных нарушений у космонавтов. Анализ цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови космонавтов в дополетном периоде показал, что спонтанный уровень хромосомных нарушений отличается значительными индивидуальными колебаниями (табл. 11). Так, число aberrантных клеток различалось у разных космонавтов от 0,4 до 2,5%. Такого же диапазона индивидуальные колебания имели место по частоте парных фрагментов и ацентрических колец. Дицентрики и центрические кольца выявлены у трех человек, то есть в 21,4 % случаев. Их частота составляла 0,21; 0,2 и 0,09 % [96].

Как известно из литературных данных, спонтанный уровень дицентриков характеризуется достаточно низкими величинами. При этом данные об относительном уровне дицентриков, широко представленные в литературе, свидетельствуют о значительной межлабораторной вариабельности данного показателя. Частота дицентриков в контрольных группах может варьировать от 0 до $2,35 \cdot 10^{-3}$ на клетку [96].

Таблица 11. Спонтанный уровень хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови космонавтов

Наблюдения	Число проанализированных клеток	Число aberrантных клеток, %	Число aberrаций хромосомного типа, %			Число aberrаций хроматидного типа, %
			парные фрагменты и ацентрические кольца	дицентрики и центрические кольца	всего	
3	200	2,5	0,5	0	0,5	2,0
5	200	2,0	1,0	0	1,0	1,0
6	200	2,0	2,0	0	2,0	0
10	300	2,0	2,0	0	2,0	0
11	200	2,5	2,5	0	2,5	0
12	200	1,0	0	0	0	1,0
13	150	0,67	0,67	0	0,67	0
14	110	0,9	1,8	0	1,8	0
18	1415	1,34	0,71	0,21	0,92(+1t)	0,42
19	1500	2,4	0,8	0,2	1,0(+1t)	1,6
20	2100	0,61	0,14	0,09	0,23	0,38
21	500	2,0	0,8	0	0,8	1,2
22	500	0,8	0,4	0	0,4	0,4
23	500	0,4	0,4	0	0,4	0,2
В среднем	8075	1,36±0,13	0,64±0,09	0,10±0,04	0,74±0,1	0,68±0,09

Учитывая приведенные выше средние значения частоты дицентриков у лиц, не подвергавшихся воздействию ионизирующих излучений [97], а также данные по частоте дицентриков на клетку в контрольных группах доноров, спонтанный уровень дицентриков и центрических колец у космонавтов был превышен примерно в два раза. Кроме того, в двух наблюдениях обнаружены клетки с симметричными транслокациями. Большие индивидуальные различия отмечались также по частоте aberrаций хроматидного типа (от 0,2 до 2,0 %).

В настоящее время мы не можем связать повышенный уровень aberrаций хромосом у космонавтов в предполетном периоде с влиянием какого-либо конкретного фактора. Вопросы зависимости частоты хромосомных aberrаций от различных факторов (курения, употребления алкоголя, пола, возраста, условий культивирования клеток и др.) многократно обсуждались в литературе, однако до сих пор не достигнуто единого мнения о средних значениях частоты хромосомных нарушений [115]. Можно лишь предположить, что в основе значительных индивидуальных колебаний частоты aberrаций хромосом в лимфоцитах крови космонавтов в дополетном периоде лежит контакт с генотоксическими факторами среды обитания или другими факторами, включая и рентгенодиагностические процедуры.

Уровни ионизирующих излучений, полученные космонавтами. Сравнительный анализ продолжительности пребывания в космосе, суммарных доз рентгеновского излучения, полученных во время рентгенодиагностических

процедур за период пребывания в отряде космонавтов, и суммарных доз космического излучения не выявил каких-либо корреляций с частотой цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови. Суммарные уровни рентгеновских лучей в отдельных случаях достигали нескольких десятков бэр. Вместе с тем, несмотря на высокую чувствительность метода, на основании проведенных исследований мы не располагаем данными, которые указывали бы на увеличение частоты спонтанного уровня цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови космонавтов в связи с величиной дозы рентгеновского излучения, хотя возрастание числа аббераций хромосом возможно после облучения рентгеновскими лучами с диагностической целью [113]. Возможно, что отсутствие цитогенетического эффекта после рентгенодиагностических процедур в большинстве наших наблюдений связано с активной элиминацией нестабильных аббераций хромосом. К тому же цитогенетический анализ в этих случаях проводился не сразу после рентгеновского обследования. Суммарные дозы космических излучений также в отдельных случаях достигали 20—30 сЗв [93]. При хроническом или сильно растянутом во времени облучении в дозах, близких к естественному фону или предельно допустимым уровням, изменения частоты цитогенетических нарушений не зависят от величины суммарной дозы радиационного воздействия. Однако с повышением дозы ионизирующих излучений вероятность возникновения неблагоприятных последствий увеличивается, в том числе и генетических нарушений в делящихся клетках. Необходимо также учитывать, что биологическая эффективность отдельных составляющих может быть выше эффектов, обусловленных космическим излучением [40].

Частота аббераций хромосом в лимфоцитах крови космонавтов после космических полетов. Изучение цитологических нарушений в лимфоцитах периферической крови космонавтов после первого полета выявило существенное увеличение частоты абберантных клеток, общего числа аббераций хромосомного типа, а также дицентриков и центрических колец (табл. 12) по сравнению с фоновым уровнем хромосомных аббераций. Средняя частота дицентриков и центрических колец была увеличена почти в 5 раз относительно дополетного уровня (рис. 16) [87—91].

Только в одном случае из 13 наблюдений дицентрики и центрические кольца не были обнаружены. Кроме того, в лимфоцитах крови 4 космонавтов (наблюдения №20—23) выявлены клетки с симметричными транслокациями, стабильными абберациями хромосом. Хотя их роль окончательно не установлена, их появление, по-видимому, может быть связано с более тяжелой степенью повреждения наследственного аппарата клеток. Увеличилось также число парных фрагментов и центрических колец, частота которых составляла от 0,4 до 3,61% против 0,4 ±2,5% в контроле. Что касается аббераций хроматидного типа, то отмечались некоторые колебания их количества как в одну, так и в другую сторону. Лишь в одном наблюдении (№ 23) после космического по-

лета имело место статистически значимое превышение частоты хроматидных фрагментов по сравнению с дополетным уровнем, причину которого трудно предположить, поскольку ионизирующие излучения индуцируют только aberrации хромосомного типа [103].

Таблица 12. Частота aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови космонавтов после первого космического полета

Наблюдения	Число проанализированных клеток	Число aberrантных клеток, %	Число aberrаций хромосомного типа, %			Число aberrаций хроматидного типа, %
			парные фрагм. и ацентр. кольца	дицентр. и центр. кольца	всего	
3	200	5,5	4,0	0,5	4,5	2,5
5	930	1,3	0,86	0,75	1,61	0
6	100	2,0	2,0	0	2,0	0
10	900	1,76	1,1	0,66	1,76	0
11	220	3,63	3,61	0,45	4,06	0
12	352	1,4	0,85	0,56	1,41	0,14
13	400	1,75	0,5	0,75	1,25	0,44
14	520	1,15	1,14	0,38	1,52	0
18	1387	1,68	0,22	0,67	0,89	0,79
20	1000	2,2	0,7	0,6	13(+1)*	1,0
21	1000	2,3	0,9	0,2	11(+2)	1,3
22	1000	1,7	0,4	0,2	0,6(+3)	0,8
23	1000	2,6	0,8	0,1	0,9(+1)	2,0

*) Симметричные транслокации хромосом.

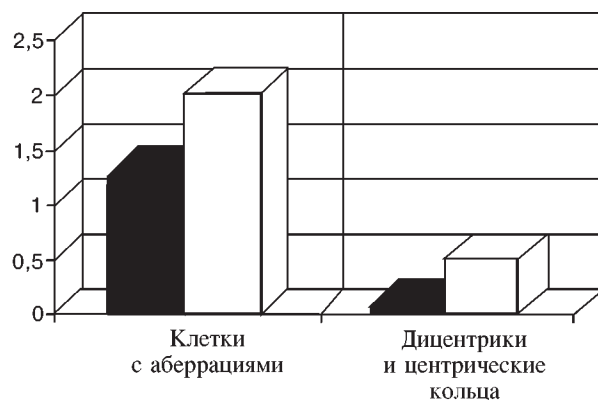


Рис. 16. Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови космонавтов (на 100 клеток): ■ — контроль, □ — после первого полета

Таблица 13. Частота aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови космонавтов в культуре после повторных полетов

Наблюде- ния	Число про- анализиро- ванных кле- ток	Число абер- рантных клеток, %	Число aberrаций хромосомного типа, %			Число абер- раций хро- матидного типа, %
			парные фрагм. и ацентр. кольца	дицентрики и центр. кольца	всего	
Перед вторым полетом						
3	500	2,4	0,4	0	0,4	2,0
5	850	1,05	0,35	0,38	0,73	0,35
7	1001	1,4	0	0,7(2цк)	0,7	0,7
9	200	1,5	1,0	0	1,0	0,5
10	500	1,6	0,8	0	0,8	1,0
11	500	1,0	0,4	0	0,4	0,6
13	500	1,2	0	0	0	1,2
17	1560	0,76	0,64	0,06	0,7	0,12
После второго полета						
3	1000	3,0	0,8"	0,1	0,9	1,7
5	536	2,93	0,37	0	0,37(+3t)	2,0
7	1000	2,5	0	2,5(5цк)	2,5	1,1
9	100	3,0	0	1,0	1,0	2,0
10	758	1,85	0,26	0,13	0,39	1,45
11	1000	1,4	0,6	0,2(1цк)	0,8(+2t)	0,4
16	983	1,92	1,41	0,81	2,22	0,3
17	585	0,86	0,5	0	0,5	0,36
Перед третьим полетом						
1	200	2,5	2,5	0	2,5	0
2	100	3,0	2,0	0	2,0	1,0
4	200	2,5	2,5	0	2,5	0
5	1000	2,0	0,8	0,1	0,9	1,2
7	500	3,6	1,4	0,2	1,6	2,6
После третьего полета						
1	80	3,75	3,75	0	3,75	0
2	100	4,0	1,0	0	1,0	3,0
4	1020	1,09	0,4	0,69	1,09	0
Перед четвертым полетом						
2	400	1,25	0,75	0	0,75	0,5
4	1000	2,3	0,8	0,1(цк)	0,9(+1t)	1,3
8	140	1,41	0	0	0	1,41
После четвертого полета						
2	100	4,0	4,0	0	4,0	0
8	200	3,0	2,0	0	2,0	1,0

В межполетном периоде, длительность которого обычно составляет 1—1,5 года, происходит снижение частоты хромосомных нарушений, однако оно не всегда достигает фонового уровня (табл. 13). С каждым последующим

полетом вновь отмечается увеличение частоты aberrаций хромосомного типа и расширение их спектра, то есть появление дицентриков и центрических колец, если они отсутствовали в период дополетного исследования. В отдельных случаях отмечалось появление клеток с симметричными транслокациями. В одном наблюдении (№3) после повторного космического полета длительностью 194 суток в культуре лимфоцитов космонавта обнаружены множественные парные фрагменты. После первого полета у данного космонавта в лимфоцитах выявлено 7% aberrаций хромосом, среди которых aberrации хромосомного типа составляли 4,5%. Результаты цитогенетического исследования лимфоцитов периферической крови космонавтов в культуре после повторных полетов позволяют предположить, что повышение частоты aberrантных клеток, появление или увеличение числа дицентриков и центрических колец и общего числа aberrаций хромосом можно считать закономерным явлением после каждого космического полета. Вместе с тем после первого полета это увеличение было наиболее существенным. Это может быть обусловлено своеобразной адаптивной реакцией на повторное влияние космической радиации. Однако для получения окончательных выводов в данном случае необходим значительно больший массив данных. К тому же в отдельных наблюдениях анализу подверглось недостаточное количество делящихся клеток.

Таблица 14. Средние значения частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови космонавтов после космических полетов

Наблюдения	Число проанализир. клеток	Число aberrантных клеток	Aberrации хромосомного типа			Aberrации хроматидного типа
			парные фрагм. и ацентр. кольца	дицентр. и центр. кольца	всего	
котроль	8075	1,36±0,13	0,64±0,09	0,10±0,03	0,74±0,10	0,68±0,09
после 1-го полета	9009	1,98±0,15	0,88±0,10	0,47±0,07	1,34±0,12	0,78±0,09
до 2-го полета	5611	1,23±0,15	0,41±0,09	0,20±0,06	0,61±0,10	0,66±0,11
после 2-го полета	5962	2,11±0,19	0,59±0,10	0,64±0,10	1,22±0,14	1,02±0,13
до 3-го полета	2000	2,55±0,36	1,35±0,26	0,10±0,07	1,45±0,27	1,30±0,25
после 3-го полета	1200	1,50±0,35	0,67±0,24	0,58±0,22	1,25±0,32	0,25±0,14
до 4-го полета	1540	1,95±0,36	0,71±0,22	0,06±0,06	0,78±0,22	1,10±0,27
после 4-го полета	300	3,33	2,67±0,94	0	2,67±0,94	0,67±0,47

Расчеты средних значений частоты хромосомных нарушений по группам в зависимости от количества космических полетов подтверждают мнение об увеличении числа aberrантных клеток, дицентриков и центрических колец, а также общего количества aberrаций хромосомного типа в лимфоцитах крови космонавтов после повторных полетов (табл. 14).

Оценка доз у космонавтов методом биодозиметрии. Для оценки индивидуальных поглощенных доз по данным [51] была построена калибровочная кривая зависимости количества дицентриков на клетку от дозы гамма-излучения. Для этого была проведена линейная регрессия по 10 точкам в диапазоне низких доз (0–50 сГр) и получена следующая зависимость:

$$y = 0,3 \cdot 10^{-3} + 0,69 \cdot 10^{-3} \cdot D,$$

где y — количество дицентриков на клетку, D — доза, сГр. При этом коэффициент корреляции $R = 0,97$, а квадратичное отклонение $SD = 0,316 \cdot 10^{-2}$.

Это позволило путем сопоставления наблюдаемых уровней хромосомных aberrаций с данной калибровочной кривой определить индивидуальные поглощенные дозы космического излучения космонавтов (табл. 15), а при сравнении полученных таким образом значений доз с данными физической дозиметрии вычислить коэффициенты ОБЭ космического излучения (табл. 16).

Таблица 15. Результаты биологической дозиметрии

Космонавт	Количество просчитанных клеток	Количество дицентриков	Количество дицентриков/клетки (10^{-3})	Доза по данным биодозиметрии, сГр
К3	200	1	$5,0 \pm 5,0$	$7,8 \pm 8,1$
К5	930	7	$7,5 \pm 2,8$	$10,4 \pm 5,6$
К10	900	6	$6,7 \pm 2,7$	$9,2 \pm 5,5$
К11	220	1	$4,5 \pm 4,5$	$6,0 \pm 7,5$
К12	352	2	$5,7 \pm 4,0$	$7,8 \pm 6,9$
К13	400	3	$7,5 \pm 4,3$	$10,4 \pm 7,2$
К18	1387	9	$6,5 \pm 2,2$	$8,9 \pm 5,2$
К20	1000	6	$6,0 \pm 2,4$	$8,2 \pm 5,3$

Необходимо отметить, что оценка доз цитогенетическим методом была произведена только по данным анализа препаратов хромосом отдельных космонавтов, полученных после первого космического полета, поскольку данные после второго полета из-за небольшого числа дицентриков не отличались статистической достоверностью. Отсутствие статистически значимых различий по частоте aberrаций хромосом в лимфоцитах крови космонавтов после второго полета по отношению к контролю, как мы уже указывали, возможно,

обусловлено проявлением адаптивного ответа клеток организма космонавтов на облучение, более известного при однократных облучениях. Однако этот вопрос требует специального исследования.

Таблица 16. Индивидуальные поглощенные дозы космонавтов, определенные методами биологической и физической дозиметрии, а также коэффициент ОБЭ космического излучения

Космонавт	Длительность полета, сут	Доза по приборам, сГр	Доза по биодозиметрии, сГр	Коэффициент ОБЭ космического излучения
К3	146	2,44	6,8	2,8
К5	189	3,65	10,4	2,9
К10	182	3,72	9,2	2,5
К11	197	3,92	6,0	1,5
К12	126	2,50	7,8	3,1
К13	126	3,30	10,4	3,2
К18	115	3,76	8,9	2,4
К20	180	5,83	8,2	1,4

Согласно проведенным расчетам, среднее значение коэффициента относительной биологической эффективности космического излучения составляет $2,5 \pm 0,7$. Это значение близко к усредненному значению коэффициента ОБЭ космического излучения, определенному физическим путем с помощью пропорционального счетчика, и лежит в пределах $1,7 \div 1,8$ [116].

Аналогичные подходы в определении доз космического излучения во время одной из длительных экспедиций на орбитальной станции «Мир» установили, что коэффициенты ОБЭ космического излучения колебались по различным видам aberrаций хромосом от 3,13 до 4,08. Среднее значение коэффициента ОБЭ в этом случае было равно 3,57 [109, 117]. В этой связи стоит заметить, что величина коэффициента ОБЭ, как показывают эксперименты на ускорителях, существенно зависит от критериев их оценки и других факторов. Накопление необходимого массива данных, возможно, приведет к их уточнению.

Таким образом, исследования цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови космонавтов после длительных космических полетов свидетельствуют о повышении частоты aberrантных клеток, количества aberrаций хромосомного типа, которое происходит преимущественно за счет увеличения числа дицентриков и кольцевых aberrаций хромосом, а также о снижении частоты aberrаций хромосомного типа в межполетном периоде в

результате элиминации клеток с хромосомными нарушениями. Наиболее выраженное увеличение частоты aberrаций хромосом отмечалось после первого космического полета. Частота выявленных нарушений не зависела от дозы космических излучений и других факторов. Цитогенетические нарушения хромосомного аппарата в культуре лимфоцитов крови человека не встречались после кратковременных полетов [91, 118]. Поскольку, кроме действия ионизирующих излучений, другие факторы космического полета не обладают генотоксическим действием (или, по крайней мере, по этому вопросу отсутствуют убедительные данные), по нашему мнению, повышение уровня хромосомных нарушений в культуре лимфоцитов крови космонавтов может быть связано с действием галактического космического излучения. Низкая интенсивность космического излучения, по-видимому, приводит к нивелированию эффекта величины дозы. Существует также мнение о возможности увеличения фоновых значений частоты aberrаций хромосом вследствие стрессовой ситуации, которая создается в результате космического полета. Однако отсутствие какой-либо реакции со стороны хромосомного аппарата лимфоцитов крови космонавтов после кратковременных полетов опровергает это предположение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота цитогенетических изменений является одним из характерных и достаточно стабильных показателей нарушений генетического материала клетки при действии ионизирующих излучений. Как показывают представленные данные, когда речь идет о влиянии космического излучения на генетические структуры, то это направление работ связано с изучением принципиально новых радиобиологических и биофизических явлений, которые исследованы еще недостаточно.

Приступая к работе, мы преследовали две основные цели: изучить возможные особенности генотоксического действия заряженных частиц широкого энергетического и зарядового диапазона в связи с вопросами обеспечения радиационной безопасности при длительных космических полетах и определить значения коэффициентов ОБЭ использованных излучений по цитогенетическим показателям. В радиобиологии тяжелых ионов эти вопросы чрезвычайно актуальны потому, что именно нарушения наследственного аппарата клеток приводят к развитию в последующем генетических и онкологических заболеваний, частота которых среди населения развитых стран постоянно увеличивается, или, по крайней мере, не имеет тенденции к снижению.

Количество aberrаций хромосом при действии излучений различного качества на клетки млекопитающих и человека обнаруживает отчетливую зависимость от дозы, которая имеет сложный характер в широком диапазоне доз,

зависимый прежде всего от ЛПЭ ускоренных ядер. При рассмотрении вопросов относительной биологической эффективности протонов показано, что более высокая биологическая эффективность характерна для протонов с энергией 25 МэВ. Далее в порядке снижения ОБЭ располагаются протоны с энергией 50 и 645 МэВ.

Для протонов этих энергий характерна S-образная кривая дозовой зависимости, тогда как для тяжелых ионов с энергиями до 10 МэВ/нуклон кривая зависимости эффекта от дозы приобретает экспоненциальный характер. Изучение динамики изменения количества клеток с абберациями хромосом (абберантных митозов) свидетельствует о том, что после облучения тяжелыми ионами наблюдается длительное сохранение таких клеток. Тяжелые ионы вызывают спектр хромосомных изменений, отличный и в качественном отношении по сравнению со стандартным излучением, что проявляется в значительно большем выходе аббераций хромосом обменного типа.

Сопоставление равноэффективных доз по индукции абберантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей и снижению митотического индекса позволило установить, что коэффициенты ОБЭ протонов с энергией 645 и 50 МэВ меньше единицы (0,73 и 0,90 соответственно), для протонов с энергией 25 МэВ коэффициент ОБЭ существенно превышает этот уровень (1,6). Наиболее высокий коэффициент ОБЭ установлен для ионов ^{11}B с энергией 7,5 МэВ/нуклон и ^{12}C с энергией 2,5 МэВ/нуклон (4,65 и 4,35 соответственно).

Многочисленные литературные материалы подтверждают выводы о том, что коэффициенты относительной биологической эффективности протонов в диапазоне энергий от 50 до 660 МэВ по критериям непосредственных и отдаленных последствий облучения близки или равны единице. На их величину не оказывают существенного влияния условия облучения биологических объектов или введения радиомодифицирующих средств.

Ускоренные заряженные частицы релятивистских энергий по своей эффективности находятся ближе к действию тяжелых ионов низких энергий. При действии протонов с энергией 9 ГэВ, ионов гелия и углерода 4 ГэВ/нуклон также отмечается более высокий выход хромосомных аббераций обменного типа в лимфоцитах периферической крови *in vitro* и клетках эпителия роговицы мышей *in vivo*, указывающих на более глубокую степень повреждения наследственного аппарата клеток. Увеличение эффективности излучений релятивистских энергий может быть объяснено действием высокоэнергетических δ -электронов. Значения коэффициентов ОБЭ по различным цитогенетическим показателям колебались от 1,4 до 3,3 для ионов гелия и от 1,3 до 2,0 для протонов соответственно. Примерно в таком же диапазоне находятся значения коэффициентов ОБЭ ионов углерода с энергией 4 ГэВ/нуклон. По цитогенетическим нарушениям в культуре лимфоцитов крови человека *in vitro* ве-

личина их составляла от 2,0 до 3,3. Для релятивистских ионов, как и для тяжелых ядер с более высокими ЛПЭ, характерна значительная вариабельность коэффициентов ОБЭ в зависимости от условий облучения биологических объектов, физических параметров воздействующих частиц, уровня организации биологических объектов, критериев оценки эффективности излучений.

Полученные результаты позволяют прийти к заключению о том, что одним из важных факторов, ответственных за характер наблюдаемых эффектов при воздействии тяжелых ионов, является величина чувствительного объема клетки («мишени»), попадание в которую приводит к определенным нарушениям, если клетка не погибает. Большие геометрические объемы клеток млекопитающих при прочих равных условиях предопределяют высокую вероятность попадания частиц в эти объемы, что и приводит в конечном итоге к высоким значениям биологической эффективности тяжелых заряженных частиц. Однако это справедливо для случаев одноударных попаданий, когда тот или иной эффект является результатом поражения единственного чувствительного объема клетки. При поражении большего количества чувствительных объемов в клетке механизмы развития радиационного повреждения могут быть другими.

Уникальные свойства лимфоцитов крови человека позволяют использовать культуру лимфоцитов в качестве объекта радиационных цитогенетических исследований у космонавтов. Высокая чувствительность метода, низкий спонтанный уровень хромосомных aberrаций у здоровых людей, естественная почти полная синхронизация клеток перед началом культивирования, длительное сохранение нестабильных aberrаций хромосом и ряд других преимуществ способствовали успешному использованию данного метода в качестве так называемого биологического дозиметра. Выполненные исследования указывают на тождественный характер радиационного эффекта в культуре лимфоцитов крови человека *in vivo* и *in vitro*. Для космической радиобиологии это особенно важно, поскольку исследования на ускорителях заряженных частиц до сих пор являются основным источником получения информации о биологическом действии отдельных видов космического излучения, закономерностях и механизмах развития тех или иных нарушений, зависимости радиационных эффектов от различных физических и биологических факторов.

Цитогенетические исследования культуры лимфоцитов периферической крови 24 космонавтов установили, что после длительных космических полетов у большинства космонавтов происходит увеличение общего количества aberrантных клеток и aberrаций хромосомного типа, несмотря на то, что ни в одном из них за время полета не была превышена допустимая доза космического излучения. Наряду с общим увеличением частоты хромосомных aberrаций возрастает также число повреждений хромосом на одну aberrантную клетку, что является показателем увеличения степени тяжести повреждения наследственного аппарата клеток.

Сильно растянутое во времени воздействие космического излучения во время длительных космических полетов, элиминация поврежденных клеток создают большие трудности для ретроспективной оценки доз космического излучения в целях биологической дозиметрии. Однако в условиях космических полетов трудно себе представить ситуацию, при которой дозы космического излучения на борту корабля, оснащенного дозиметрическими приборами, будут неизвестны. В связи с этим в настоящее время более важно использование цитогенетического метода как надежного индикатора именно воздействия космического излучения, поскольку другие факторы полетов не обладают генотоксическим действием. В пользу такого подхода свидетельствует и то обстоятельство, что частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови космонавтов не проявляет заметной зависимости от дозы космического излучения. Это согласуется с мнением о том, что при хроническом облучении в малых дозах большее значение имеет не величина дозы, а интенсивность излучения.

Выявленный феномен увеличения частоты aberrантных клеток и хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови космонавтов после длительных космических полетов приводит авторов работы к выводу о том, что эту категорию специалистов следует отнести к группе повышенного риска воздействия ионизирующих излучений.

В заключение отметим, что изучение цитогенетической эффективности тяжелых заряженных частиц, и в еще большей степени — космической радиации, далеко от своего завершения. Недостаточно изучены механизмы цитогенетических нарушений при действии излучений различного качества. Мало информации о действии ТЗЧ на ткани млекопитающих и их канцерогенной эффективности и т.д. Вместе с тем следует отметить, что в настоящее время для корректного ретроспективного определения доз ионизирующих излучений все более широко используется новый перспективный метод флуоресцентного анализа после *in situ* гибридизации хромосом со специфическими молекулярными зондами клеток (FISH-техника), позволяющий обнаруживать стабильные aberrации хромосом, которые, однажды возникнув, сохраняются до конца жизни человека. Показано, что применение FISH-метода позволяет оценивать поглощенные дозы десятилетия спустя после воздействия ионизирующих излучений. Это обстоятельство делает применение этого метода в биологической дозиметрии в связи с космическими полетами весьма перспективным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Мастрюкова А.М., Стржижовский А.Д.**— Проблемы радиационной безопасности космических полетов. М.: Атомиздат, 1964, с.143.
2. **Груздев Г.П.**— Сборник рефератов по радиационной медицине. М.: Медгиз, 1961, т.4, с.14.

3. Шапиро И.М., Константинова М.М.— ДАН СССР, 1959, т.125, с.654.
4. Мاستрюкова В.М., Стржижовский А.Д.— Радиобиология, 1963, т.3, в.5, с.667.
5. Ворожцова С.В.— Радиобиологические эффекты в клетках эпителия роговицы мышей при воздействии протонов и тяжелых ионов. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: Институт медико-биол. проблем МЗ СССР, 1973, 20 с.
6. Ворожцова С.В., Федоренко Б.С., Андрущенко В.Н., Яшкин П.Н.— Радиобиология, 1987, т.27, в.6, с.779.
7. Кудряшов Е.И.— Проблемы космической биологии. Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей. Л.: Наука, 1989, т.60, с.153.
8. Попов В.И., Портман А.И.— Проблемы космической биологии. Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей. Л.: Наука, ЛО, 1989, т.60, с.162—167.
9. Сычков М.А.— Проблемы космической биологии. Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей. Л.: Наука, ЛО, 1989, т.60, с.146—153.
10. Федоренко Б.С.— ЭЧАЯ, 1991, т.22, вып.5, с.1199.
11. Kraft G.— Nuclear Science Application, 1987, v.3, p.1.
12. Ли Д.Э.— Действие радиации на живые клетки. М.: Госатомиздат, 1963.
13. Бак З., Александер П.— Основы радиобиологии. М.: ИЛ, 1963.
14. Дубинин Н.П.— Проблема радиационной генетики. М.: Атомиздат, 1961.
15. Puck T.T., Marcovín D., Marcus P.G., Cuescura S.J.— In: Proc. National Acad. Sci. US, 1967, v.52, 1, p.152.
16. Рыжов Н.И., Тоцева А.М., Говорун Р.Д. и др.— Космич. биол. и медиц., 1973, т.2, с.79.
17. Тодоров Св., Милева М., Иванов Б., Буланова М.— Эксперим. медиц. и морфология, 1972, т.11, в.4, с.220 (болг.).
18. Todorov S.L.— Strahlentherapie, 1957, v.149, 2, p.197.
19. Takatsují T., Takekoshi H., Sasaki M.S.— Int. J. Radiat. Biol., 1983, v.44, 6, p.553.
20. Рапопорт И.Я., Ярмоненко С.П., Аврунина Г.А.— В сб.: Материалы по биологическому действию протонов высоких энергий. М.: 1962, с.102.
21. Шмакова Н.Л., Ярмоненко С.П.— Радиобиология, 1963, т.3, в.2, с.291.
22. Шмакова Н.Л.— Радиобиология, 1965, т.5, 2, с.275.
23. Пономарева В.Л.— Радиобиология, 1965, т.5, в.4, с.514.
24. Говорун Р.Д.— Вопросы радиобиологии и биологического действия цитостатических препаратов. Томск: Изд. Томск. ун-та, 1970, т.2, с.15.
25. Говорун Р.Д., Ворожцова С.В., Рыжов Н.И., Сычков М.А.— Биологическое действие протонов высоких энергий. М.: Атомиздат, 1967, с.277.
26. Палыга Т.Ф.— Радиобиология, 1965, т.5, в.2, с.279.
27. Григорьев Ю.Г., Савченко Н.Я., Рыжов Н.И.— Вопросы радиобиологии и биологического действия цитостатических препаратов. Томск: Изд. Томск. ун-та, 1971, т.3, с.3.
28. Ярмоненко С.П., Шмакова Н.Л., Фадеева Т.А. и др.— Мед. радиология, 1974, т.3, с.47.
29. Betteda D., Calzolari P., Gariboldi L. et al.— Radiat. Protect. 8 Symp. Microdosim., Julich, 27 Sept.—1 Oct., 1982. Luxembourg, 1982, p.707.
30. Мастрюкова В.М., Стржижовский А.Д.— Радиобиология, 1967, т.7, в.4, с.537.
31. Мастрюкова В.М., Стржижовский А.Д.— Космич. биол. и медиц., 1969, т.4, с.41.
32. Рыжов Н.И., Федоренко Б.С.— Относительная биологическая эффективность протонов и тяжелых ионов. М.: Гос. комитет по использованию атомной энергии СССР, Нац. комиссия по радиац. защите при Минздраве СССР, препринт 82–33, 1983, 32с.
33. Ярмоненко С.П.— Материалы по биологическому действию протонов высоких энергий. М., 1962, с.50.

34. **Ярмоненко С.П., Аврунина Г.А., Шашков В.С., Говорун Р.Д.**— Проблемы космической биологии. М.: Наука, 1962, т.2, с.388.
35. **Рыжов Н.И., Ворожцова С.В., Кошеева Л.А.**— Вопросы радиобиологии и биологического действия цитостатических препаратов. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1971, с.21—28.
36. **Шашков В.С., Морозов В.С.**— Проблемы космической биологии. М.: Наука, 1965, т.4, с.401.
37. **Todd P.**— *Radiat. Res., Suppl.*, 1967, v.7, p.196—207.
38. **Герасименко В.Н.**— Хромосомные нарушения в лимфоцитах крови человека при воздействии ускоренных протонов и тяжелых ионов. Автореф. канд. биол. наук. М.: Институт медико-биологических проблем МЗ СССР, 1983, 25с.
39. **Рыжов Н.И., Попов В.И., Федоренко Б.С. и др.**— Вопросы биологического действия и дозиметрии тяжелых заряженных частиц и адронов высоких энергий. Пушино, 1984, с.6.
40. **Герасименко В.Н., Портман А.И., Буланова М. и др.**— Радиобиология, 1987, т.27, в.6, с.743.
41. **Федоренко Б.С., Савченко Н.Я., Ворожцова С.В. и др.**— Радиобиология, 1987, т.27, в.3, с.339.
42. **Герасименко В.Н., Ворожцов А.С.**— Космич. биол. и авиакосмич. медиц. Тез. докл. 9 Всесоюзн. конф., Москва—Калуга, 1990, с.372.
43. **Севаньяев А.В., Жербин Е.А., Лучник Н.В. и др.**— Радиочувствительность и лучевая терапия опухолей. Л., 1976, ч.2, с.32.
44. **Севаньяев А.В., Жербин Е.А., Лучник Н.В. и др.**— Мед. радиология, 1977, т.22, в.10, с.25.
45. **Севаньяев А.В., Обатуров Т.М.**— Восстановление и компенсаторные процессы при лучевых поражениях. Л., 1979, с.92.
46. **Бочков Н.П., Демин Ю.С., Лучник Н.В.**— Генетика, 1972, т.8, в.5, с.133.
47. **Севаньяев А.В., Лучник Н.В.**— Генетика, 1973, т.9, в.11, с.165.
48. **Бочков Н.П.**— Мед. радиология, 1993, т.38, в.2, с.32.
49. **Герасименко В.Н., Боужек Э., Федоренко Б.С., Рошек О.**— 29 Совещ. соц. стран по космич. биол. и медиц. Тез. докл., Гавана, 1986, с.21.
50. **Говорун Р.Д., Ворожцова С.В., Герасименко В.Н.**— Космич. биол. и авиакосмич. медиц., 1982, в.4, с.64.
51. **Севаньяев А.В.**— Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. М.: Энергоатомиздат, 1987.
52. **Raju M.R., Blakely E., Howard J. et al.**— *Radiat. Res.*, 1976, v.65, No.1, p.191.
53. **Hall E.J., Bird R.P., Rossi N.H. et al.**— *Radiat. Res.*, 1977, v.70, No.3, p.469.
54. **Blakely E.A., Tobias C.A., Ngo F.Q. et al.**— *Inst. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys., Suppl.*, 1978, v.4, No.2, p.93.
55. **Goldstein L.S.**— *Radiat. Res.*, 1977, v.70, No.3, p.771.
56. **Ворожцова С.В., Герасименко В.Н., Рыжов Н.И., Савченко Н.Я.**— 15 Совещ. постоянно действующей раб. группы по космич. биол. и медиц. по программе Интеркосмос. Тез. докл. Бухарест, 1982, с.24.
57. **Рыжов Н.И., Ворожцова С.В., Кошеева Л.А., Мاستрюкова В.М.**— Космич. биол. и авиакосмич. медиц. Тез. докл. 4 Всесоюзн. конф. Москва—Калуга, 1972, с.288.
58. **Skarsgard L., Kihlman B., Parker L et al.**— *Radiat. Res., Suppl.*, 1967, v.7, p.208.
59. **Grigoryev Yu.G., Ryzhov N.I., Popov V.I. et al.**— *Radiat. Res. Biomedical, Chemical a. Physical Perspectives.* Acad. Press, New York, San Francisco, London, 1975, p.1173.
60. **Федоренко Б.С., Герасименко В.Н., Опарина Д.Я. и др.**— 18 Совещ. соц. стран по космич. биол. и медиц. Матер. симпозиума. 1985, М., АН СССР, Совет «Интеркосмос», МЗ СССР, с.317—318.
61. **Герасименко В.Н., Зухбая Т.М.**— Космич. биол. и авиакосмич. медиц., 1988, т.2, с.85.

62. **Ярцев Е.И., Новосельцева С.Д., Герасименко В.Н.**— Тез. докл. 9 Всесоюз. науч. конф., Л., 1986, с.264.
63. **Григорьев Ю.Г.**— Космическая радиобиология. М.: Энергоиздат, 1982.
64. **Даренская Н.Г., Козлова Л.Б., Акоев И.Г., Невская Т.Ф.**— Относительная биологическая эффективность излучений. Фактор времени облучения. М.: Атомиздат, 1968.
65. **Троицкий Н.А., Турбин Н.В., Арсеньева М.А.**— Генетические эффекты промежуточных нейтронов. Минск: Наука и техника, 1971.
66. **Raju M.J.**— *Int. J. Radiat. Biol.*, 1995, v.67, No.3, p.237.
67. **Рыжов Н.И.**— Проблемы космической биологии. Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей. Л., Наука, 1989, т.60, с.178—198.
68. **Красавин Е.А.**— Проблемы ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989.
69. **Todd P.**— *Biol. Effects of Heavy Ions in Second Sympos. on Prot. Radiat. in Space: October 12—14, 1964.* Washington, NASA, 1965.
70. **Ворожцова С.В., Федоренко Б.С.**— *Авиакосмич. и экологич. медиц.*, 1994, №4, с.40.
71. **Григорьев Ю.Г., Рыжов Н.И., Федоренко Б.С. и др.**— *Космич. биол. и медиц.*, 1974, №2, с.3.
72. **Grigoriev Yu.G., Ryzhov N.I., Krasavin E.A. et al.**— *COSPAR. Life Sci. a space Res. 9 Proceed. of the Open Meeting of the Working Group on Space Biol. Madrid, Spain, 10—24, 1972.* Berlin, Academi-Verlag, p.247.
73. **Васильев И.С., Дербенева Н.Н., Рыжов Н.И. и др.**— Биологическое действие протонов высоких энергий. М.: Атомиздат, 1967, с.162.
74. **Говорун Р.Д.**— *Космич. биол. и медиц.* 1968, №6, с.21.
75. **Тоцева А., Рыжов Н.И., Герасименко В.Н., Дерменджиев Е.**— 3-я Нац. конф. по радиологии и радиобиологии. Пловдив, 1973, с.90 (болг.).
76. **Плотникова Е.Д., Страшненко С.И.**— *Радиобиология*, 1963, т.3, №2, с.286.
77. **Засимовская А.И., Дербенева Н.Н., Григорьев Ю.Г., Рыжов Н.И.**— Вопросы радиобиологии и биологического действия цитостатических препаратов. Томск: Изд-во Томского ун-та. 1971, т.3, с.11.
78. **Ворожцова С.В., Мاستрюкова В.М., Кошечева Л.А.**— В сб: *Материалы 2-й научной конф. молодых ученых.* М., МЗ СССР, 1967, с.46.
79. **Герасименко В.Н., Говорун Р.Д., Рыжов Н.И.**— *Радиобиология*, 1980, т.20, №2, с.206.
80. **Корогодин В.И., Красавин Е.А.**— *Радиобиология*, 1982, т.22, №6, с.727.
81. **Рыжов Н.И., Ворожцова С.В., Красавин Е.А. и др.**— *Функция организма и факторы космического полета.* М.: Медицина, 1974, с.211.
82. **Brown D.A., Seydel H.G., Todd P.**— *Cancer*, 1973, v.32, No.3, p.541.
83. **Невзгодина Л.В., Григорьев Ю.Г., Маренный А.М.**— Действие тяжелых ионов на биологические объекты. М.: Энергоатомиздат, 1990.
84. **Севаньяев А.В., Моисеенко В.В., Цыб А.Ф.**— *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1994, т.34, №6, с.782.
85. **Севаньяев А.В., Анкина М.А., Голуб Е.В. и др.**— *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1995, т.35, №5, с.596.
86. **Шевченко В.А., Снигирева Т.П., Сусков И.И. и др.**— *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1995, т.35, №5, с.588.
87. **Дружинин С.В.**— *Радиобиология. Радиоэкология. Радиационная безопасность.* Тез. докл. третьего съезда по радиационным исследованиям. Москва, 14—17 окт. 1997. Пущино, 1997, т.2, с.67.
88. **Дружинин С.В., Федоренко Б.С., Цетлин В.В. и др.**— Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии. Труды Междунар. симпозиума к 90-летию акад. Н.М.Сисакаяна. Дубна, 1997, т.2, с.165.
89. **Krasavin E.A., Govorun R.D., Fedorenko B.S. et al.**— *JINR, Preprint E19-97-170, Dubna, 1997.*

90. Shevchenko V., Snigiryova G, Petrov V. et al.— Man in space. The Future of Humans in Space. Abstr. 12th Sympos. June 8—12, 1997. Washington, DC, NASA, 1997, p.289.
91. Сабатье Л., Федоренко Б.С., Герасименко В.Н.— Авиакосмич. и экологич. медиц. 1995, т.1, с.26.
92. Бондаренко В.А., Митрикас В.Г., Цетлин В.В.— Авиакосмич. и экологич. медиц., 1995, т.6, с.64.
93. Акатов Ю.А., Архангельский В.В., Петров В.М.— Космич. биол. и авиакосмич. медиц. Тез. докл. 11 конф., М., 1998, с.15.
94. Prieur M., Al Achkar W., Aurias A. et al.— Human Genetics, 1988, v.77, p.147.
95. Ivanov B., Prascova I., Mileva M. et al.— Mut. Res., 1978, v.52, p.421.
96. Vauchinger M.— Stem Cell, 1995, Suppl., 1995, v.13, p.182.
97. Lloyd D.C., Purrot R.J., Reeder E.J.— Mut. Res., 1980, v.72, p.523.
98. Шевченко В.А., Семов А.В., Акаева Э.А. и др.— Радиационная биология. Радиоэкология, 1995, т.35, №5, с.646.
99. Shevchenko V.A., Snigiryova G.P.— Consequences of the Chernobyl Catastrophe: Human Health. Ed. Burlakova E.B. Moscow, 1996.
100. Evans H.J., Vucton K.E., Hamilton G.E.— Carotherst. Nature, 1979, v.277, p.531.
101. Нугис В.Ю., Чирков А.А.— Радиобиология, 1990, т.30, №5, с.585.
102. Шевченко В.А., Акаева Э.А., Арутюнян В.Д. и др.— 1-й Всесоюзн. радиобиол. съезд. Москва, 21—27 августа, 1989, Тез. докл. Пущино, 1989, с.657.
103. Бочков Н.П.— Вестник РАМН, 1993, т.6, с.51.
104. Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment, Vienna, IAEA, Technical report series 260, 1986.
105. Рябуха А.К., Кривошеева Л.П.— Радиобиология, 1983, т.3, с.383.
106. Нугис В.Ю.— Мед. радиология и радиационная безопасность, 1996, т.3, с.63.
107. Ionizing Radiation. Sources and Biological Effects. Report to the General Assembly with Annexes. Unions Sales Publications, E82, 1982. United Nations, New York, 1982.
108. Tucker J.D., Ramsey M.J., Lee D.A., Minkler J.L.— Int. J. Radiat. Biol., 1993, v.64, No.1, p.27.
109. Yang T.C., George K., Johnson A.S. et al.— Авиакосмич. и экологич. медиц., 1997, т.2, с.8.
110. Natarajan A.T. Obe G.— Fundamentals for the Assessment fo Risks from Environmental Radiation. Abstr. NATO — Advanced Research Workshop. 6—10 oct. 1997. Brno, Czech. Republic. 1997, p.44.
111. Шевченко В.А., Померанцева М.Д.— Генетические последствия действия ионизирующих излучений. М.: Наука, 1985.
112. Стравицкий Р.В., Ермаков В.А., Лебедев Л.А. и др.— Эквивалентные дозы в органах и тканях человека при рентгенодиагностических исследованиях. Справочник. М.: Энергоатомиздат, 1989.
113. Кудрицкий Ю.К., Биккулов Р.И., Григорьева Л.П. и др.— Rept. Staatl. Zentr. Strahlenschutz, 1974, v.157, p.89.
114. Либерман А.Н., Айзенрайх М., Польский О.Т. и др.— Итоговая конференция о научно-техническом сотрудничестве в области радиационной безопасности между Минздравом СССР и Государственным управлением по атомной безопасности и защите от излучения в период 1979—1980 гг. Веймар, 12—18 окт. 1980. SAAS-280. Веймар, 1981, с.166.
115. Бочков Н.П., Катосова М.Д., Платонова В.И. и др.— Генетика, 1994, т.30, №4, с.463.
116. Зависимость коэффициента качества космических излучений от линейной энергии. ГОСТ 25645.218-90, М., Госстандарт СССР, 1990.
117. Yang T.C., George K., Johnson A.S. et al.— Radiat. Res., 1997, v.148, p.17.
118. Testard I., Ricoul M., Hoffschir F. et al.— Int. J. Radiat. Biol., 1996, v.70, No.4, p.403.