Український Радіологічний Журнал
© ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України (2011)
УРЖ 2011; 19: 420–432

ЛЕКЦІЯ

Основи радіобіології

1. Загальні закономірності біологічної дії іонізивного випромінення Пряма і непряма біологічна дія. Молекулярні ефекти

М.І. Пилипенко

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», Харків

Fundamentals of radiobiology

1. General regularities of biologic effect of ionizing radiation Direct and indirect biologic effect. Molecular effects

Для всіх живих організмів, від одноклітинних до ссавців, встановлено загальні закономірності біологічної дії іонізивного випромінення (ІВ) — специфічні для цього фізичного фактора:

• тяжкі наслідки для організму виникають за мізерної кількості поглинутої енергії ІВ молекулами тканин (при навіть летальній дозі опромінення людини в її тканинах поглинається енергія, еквівалентна тепловій, що безпосередньо підвищила б температуру тіла постраждалого на 0,001 °С);

• після опромінення до появи наслідків має минути певний проміжок часу (латентний період), термін якого може тривати хвилини, години, тижні, місяці і навіть роки залежно від дози опромінення і природи очікуваного ефекту;

• очікувані наслідки дії ІВ можна істотно модифікувати як у бік підсилення, так і послаблення майже до їх запобігання впливом на організм факторами різної природи до, під час або після опромінювання;

• різні організми мають видові та індивідуальні відмінності в чутливості до дії ІВ (*радіочутливості*), ступінь різниці між якими може сягати десятків, сотень і навіть тисяч разів;

• різним структурам і функціям одного і того самого організму властива різна чутливість до дії радіації.

Цілком зрозуміло, що названі основні специфічні риси біологічних ефектів ІВ пов'язані з особливостями цього фізичного фактора:

• його, певною мірою, «всепроникністю»;

• як правило, одночасною дією на всі тканинні структури в осередку опромінення;

• специфікою механізмів розвитку змін у організмі за принципом ланцюгової розгалуженої реакції з поступовим зростанням ступеня змін;

• здатністю локальних енергетичних порушень у біологічно значущих макромолекулах мігрувати за межі місця їх первинного виникнення.

До цього слід додати, що жоден із факторів зовнішнього середовища біологічної, хімічної чи фізичної природи не привертав такої уваги дослідників і не піддавався такому глибокому і всеохопному вивченню щодо закономірностей впливу на живу матерію, як ІВ. Не випадково, що ще на початку 40-х років минулого сторіччя була офіційно визнана нова наука — *радіобіологія*, присвячена вивченню цих проблем.

Головною особливістю дії ІВ є два суто фізичних явища — збудження та іонізація атомів і молекул опромінюваного середовища, які є початковими в ланцюгах хімічних і структурних процесів, що, врешті-решт, можуть завершитися зміною властивостей і складу середовища.

Коли йдеться про опромінення живої матерії, ці ініціальні процеси слід розглядати окремо для водної фази і структурних органічних молекул, позаяк зміни останніх дають безпосередні наслідки щодо радіаційних порушень функціонування живої системи, тоді як безпосереднього біологічного значення збудження та іонізація молекул води не мають, і лише продукти цих процесів можуть зумовити порушення функціону-

вання макромолекул з істотними наслідками. Тому іонізація макромолекул і молекул води має, відповідно, назву «прямої» і «непрямої» біологічної дії радіації.

«Пряма» біологічна дія ІВ

Будь-які типи радіації — ікс-промені, гамма-промені, заряджені і незаряджені частинки — можуть передавати свою енергію безпосередньо критичним мішеням у клітинах, атоми яких іонізуються чи збуджуються, що започатковує ланцюги подій, які завершуються біологічними наслідками (рис. 1). Така форма фізичного механізму біологічної дії ІВ більш, все ж, притаманна важким частинкам, таким як альфа-частинки, протони і нейтрони з високою густиною іонізації.

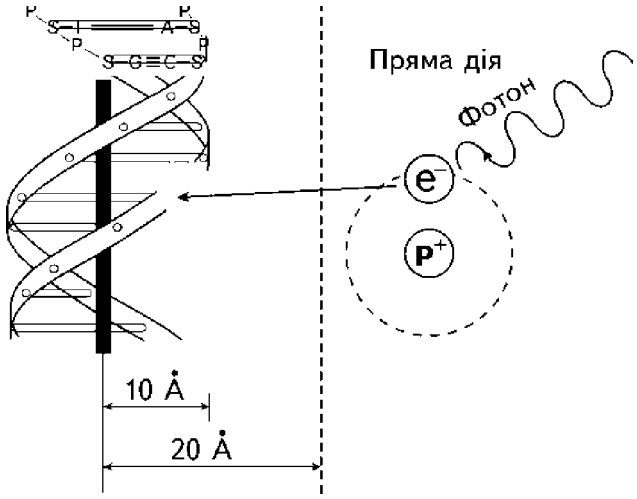

Рис. 1. Ілюстрація прямої біологічної дії ІВ: в результаті стикання фотона з атомом, останній іонізується з відривом з його оболонки електрона, який стає знаряддям руйнування структури важливих макромолекул з відповідними наслідками для клітини; фотон може іонізувати і безпосередньо один із атомів макромолекули з тими ж самими біологічними наслідками

Fig. 1. Direct biologic effect of ionizing radiation: as a result of photon and atom collision, the latter ionizes with electron detachment from its shell, the former becomes a weapon of destruction of essential macromolecules structure with resultant consequences for the cell; a photon can ionize one of the atoms of a macromolecule with similar biologic consequences

«Непряма» біологічна дія ІВ

Як відомо, від 70 до 90 % маси тканин організму складає вода, тому переважна частина поглинутої енергії ІВ зазвичай припадає саме на цю фазу його внутрішнього середовища. Радіаційні перетворення води мають назву *радіоліз*. Процес радіолізу води відбувається в кілька етапів:

спочатку молекула іонізується зарядженою частинкою чи фотоном (рис. 2):

$H_2O \longrightarrow H_2O^+ + e^-$

іонізована молекула розкладається на радикал $OH^\cdot$, який має високу реакційну здатність, та протон:

$H_2O^+ \longrightarrow H^+ + OH^\cdot$

«вирваний» електрон швидко взаємодіє з однією з навколишніх молекул води з виникненням збудженої молекули H_2O^-, яка, в свою чергу, дисоціює на два радикали $H^\cdot$ і OH^-:

$H_2O + e^- \longrightarrow H_2O^- \longrightarrow H^\cdot + OH^-$

із двох радикалів OH^- утворюється перекис водню:

$OH^- + OH^- \longrightarrow H_2O_2$,

а *за наявності кисню* відбувається реакція:

$2H^\cdot + O_2 \longrightarrow 2HO^\cdot$.

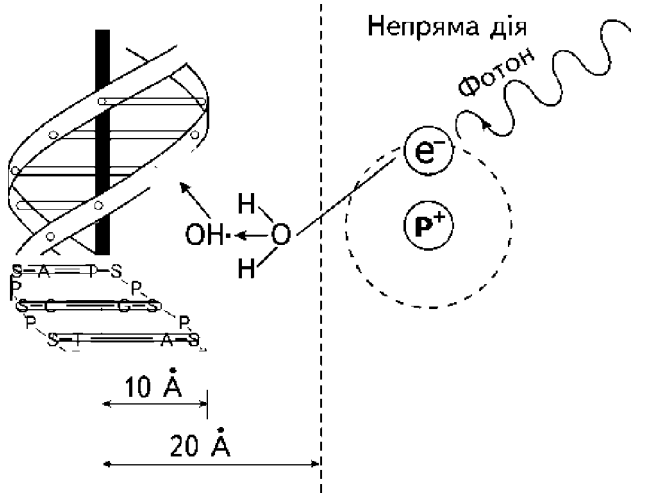

Рис. 2. Ілюстрація непрямої біологічної дії ІВ: в результаті іонізації молекул води утворюються радикали $HO^\cdot$ і перекиси, які хімічно руйнують макромолекулу

Fig. 2. Indirect biologic effect of ionizing radiation: molecule ionization results in formation of free radicals $HO^\cdot$ and peroxides, which destroy the molecule chemically

Перекис водню H_2O_2 та радикал $HO^\cdot$ дифундують у середовищі, окиснюючи, і тим руйнуючи, структурні молекули — ДНК, білки, піримідинові і пуринові основи (рис. 2).

Окисненню піддаються також ненасичені жирні кислоти й феноли, в результаті чого утворюються *ліпідні* та *хінонові радіотоксини*. Останні пригнічують синтез нуклеїнових кислот, діють на молекулу ДНК як хімічні мутагени, змінюють активність ферментів, реагують з ліпідно-білковими внутріклітинними мембранами. Пуринові і піримідинові основи зазнають дезамінування, окиснення кілець та розкриття гетероциклу, тобто значних деструкцій молекул, вуглеводи — окиснювального розпаду з утворен-

ням уронових кислот і відщепленням від молекул альдегідів.

Під впливом радіації молекули простих білків зазнають таких змін (рис. 3):

• конфігураційних, без зміни молекулярної маси, але з послабленням чи втратою фізико-хімічних та біологічних властивостей;

• утворення «зшивок» всередині молекули і між молекулами з їх агрегацією та збільшенням молекулярної маси;

• деструкції молекул з розпадом на фрагменти з малою молекулярною масою;

• хімічних перетворень функціональних центрів молекул білка з втратою ними специфічних властивостей — інактивації білка, зокрема ензимів.

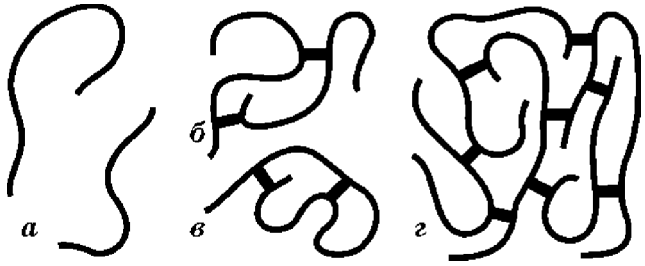

Рис. 3. Ілюстрація морфологічних ушкоджень білків: а – нативні молекули білків, б – міжмолекулярні містки, що з'єднують хімічним зв'язком дві молекули, в – внутрішні молекулярні містки, г – утворення сітки із кількох молекул

Fig. 3. Morphological damages of proteins: а – native molecules of proteins; б – intermolecular bridges joining two molecules with a chemical bond; в – internal molecular bridges; г – formation of a network consisting of several molecules

У нуклеїнових кислот ІВ може викликати розриви однієї чи (рідше) двох ниток спіралі або утворення містків між окремими молекулами (рис. 4). Цілком зрозуміло, що структурні порушення будуть супроводжуватися функціональною неспроможністю молекул.

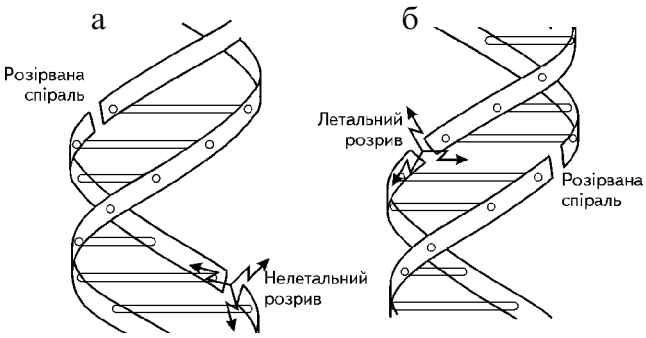

Рис. 4. Радіаційні розриви спіралі ДНК: а — одинарні, б — подвійні

Fig. 4. Radiation ruptures of DNA spiral: а — single, б — double

Отже, бачимо, що будь-яка з молекул, які входять до складу структурних елементів клітин, при дії радіації може зазнавати прямої чи опосередкованої руйнації із втратою функції й утворенням хімічно активних радикалів. Інша річ, що такі руйнації можливі при незначних дозах опромінення рідкими і відновлюваними джерелами за наявності відповідних для цього факторів внутрішнього чи зовнішнього походження.

Таким чином, первинні радіохімічні реакції чинять пряме і опосередковане (через продукти радіолізу води і радіотоксини) ушкодження найголовніших біохімічних компонентів клітини — нуклеїнових кислот, білків, ферментів. У подальшому бурхливо змінюються ферментні реакції — підсилюється ферментативний розпад білків і нуклеїнових кислот, знижується синтез ДНК, порушується біосинтез білків і ферментів.

Модифікація радіочутливості

Ще на початку 50-х років 20-го століття з'явилися перші повідомлення щодо можливості реального ослаблення ефекту ІВ, навіть летального, шляхом попереднього введенням в організм деяких хімічних сполук, які отримали назву радіопротекторів (від лат. protector — захисник, покровитель). Сам процес ослаблення радіаційного ураження був названий хімічним захистом.

До найбільш ефективних протекторів належать речовини, до складу яких входить SH-група (цистамін, глютатіон та ін.), активні відновлювачі, диметилсульфоксид, інактиватори кисню.

Одночасно розробляється і зворотна проблема — підсилення дії ІВ. Це важливо для радіаційної онкології, позаяк радіорезистентність багатьох пухлин перешкоджає ефективному використанню променевої терапії в таких випадках, а штучне підвищення їх чутливості до дії ІВ може бути шляхом до поліпшення результату променевого лікування. Хімічні сполуки, здатні модифікувати радіочутливість, отримали назву радіосенсибілізаторів.

Для оцінки ступеня модифікації радіочутливості використовують три критерії:

абсолютну величину різниці між значеннями показників дослідження радіочутливості в досліді (експеримент з модифікатором) і контролі (експеримент без модифікатора);

індекс ефекту — відношення значень показників у досліді і контролі;

фактор зміни дози (ФЗД) — відношення величин рівноефективних доз у досліді і контролі.

Кисневий ефект — це явище підсилення променевого ураження при підвищенні концентрації кисню. Кількісним показником його слугує *коефіцієнт кисневого підсилення* (ККП) (OER — oxygen enhancement ratio), аналог ФЗД для модифікаторів радіочутливості (рис. 5). Явище універсальне і проявляється при дії рідкоіонізувальних ІВ в усіх видах живої матерії. Ефект проявляється навіть при заміні анаеробних умов на повітря.

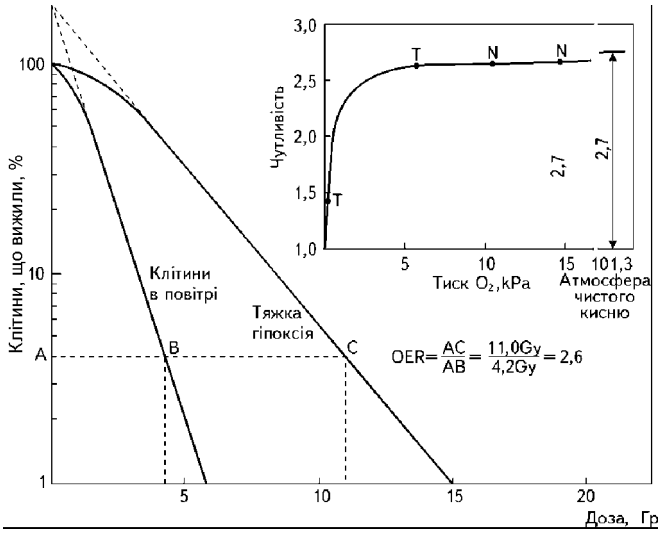

Рис. 5. Ілюстрація значень коефіцієнта кисневого підсилення — частка у відсотках живих клітин за присутності і відсутності кисню (O_2). На вставці — залежність радіочутливості від парціального тиску O_2 (за H. Johnsa, J. Cunningham, 1983)

Fig. 5. The values of coefficient of oxide boost – proportion (%) of living cells at presence or absence of oxygen (O_2). Inserted is dependence of radiosensitivity from partial (O_2) pressure (H. Johnsa, J. Cunningham, 1983)

На схемі (рис. 6) представлено хронологічну послідовність фізико-хімічних і біологічних явищ в опромінених тканинах. На першому етапі (протягом перших 10^{-18}–10^{-12} с) відбуваються суто фізичні процеси поглинання енергії випромінення шляхом іонізації і збудження атомів молекул середовища.

Це явище не специфічне для живої матерії і відбувається однаково в будь-якому середовищі. Потім через мілісекундний проміжок починаються радіохімічні реакції з утворенням вільних радикалів. Саме на цьому етапі починає діяти хімічний захист (радіопротектори), з одного боку, і ефект кисневого підсилення майбутнього радіаційного ураження, з іншого. Наступний

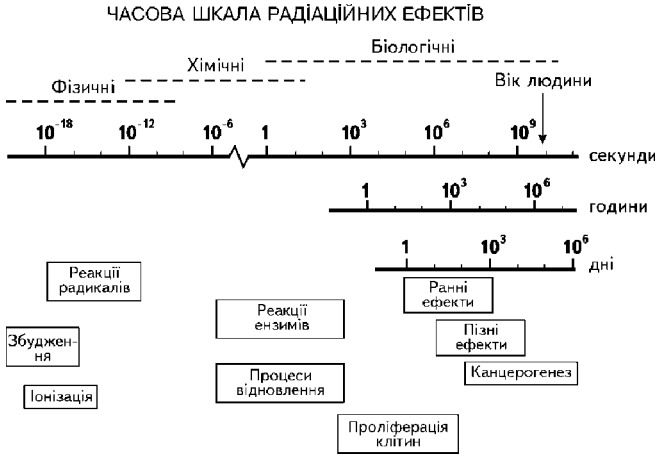

Рис. 6. Хронологічна послідовність фізико-хімічних і біологічних явищ в опромінених клітинах і тканинах

Fig. 6. Chronological sequence of physico-chemical and biological phenomena in irradiated cells and tissues

етап — початок ушкодження макромолекул, ензимні реакції і процеси відновлення ушкоджень. Тривалість цього етапу (якщо опромінювання закінчилося) — секунди чи десятки хвилин: саме стільки часу необхідно, щоб усі утворені радикали прореагували з макромолекулами з розвитком відповідних наслідків для останніх (ушкодження генетичного матеріалу клітини, біохімічні ураження, можливі ранні фізіологічні ефекти). На цьому фактично закінчується ініціальний період фізико-хімічних змін в атомах і молекулах, і починають розвиватися суто біологічні патофізіологічні і патоморфологічні зміни:

- затримка поділу клітин,
- порушення обміну речовин,
- морфологічні ушкодження.

2. Клітинні ефекти. Закон Бергоньє–Трибондо

Латентний період

Найголовніша відмінність між дією ІВ й інших хімічних та фізичних агентів полягає в тому, що початковий ефект у першому випадку може бути настільки слабким, що деякий час взагалі не виявлятися. Цей період між опроміненням і появою ознак ураження називається *латентним*, або *продромальним*.

Під час латентного періоду відбувається наростання кількості структурно-функціональних порушень у вигляді ланцюгової реакції.

Тривалість латентного періоду залежить від численних чинників біологічної природи, проте,

головним чином, пов'язана з величиною поглинутої дози. Чим вона більша, тим коротший латентний період, аж до майже негайного прояву дії опромінення. Але після опромінення в найбільш поширених поглинутих дозах, між 1 і 10 Гр, латентний період становить кілька годин чи навіть днів. Такий період для певних ефектів опромінення може бути надто довгим — навіть десятиліття, і тому важко визначити, чи буває повне відновлення клітин і тканин після опромінення.

Варіанти загибелі клітин

При опроміненні уражуються всі без винятку внутріклітинні структури, і як наслідок цього можна зареєструвати багато різноманітних реакцій клітини: затримку поділу, пригнічення синтезу ДНК, ушкодження мембран і органел тощо.

Інтенсивність цих реакцій залежить, зокрема, від того, на якій стадії клітинного циклу відбулося опромінювання.

Життєвий цикл клітини *(клітинний цикл) складається з послідовних стадій* (рис. 7):

- *мітозу* (М) — процесу поділу клітини та
- *інтерфази*, яка поділяється на послідовні:
- *досинтетичний* (G1),
- *синтетичний* (S) і
- *післясинтетичний* (G2) періоди.

У синтетичний період відбувається процес синтезу ДНК.

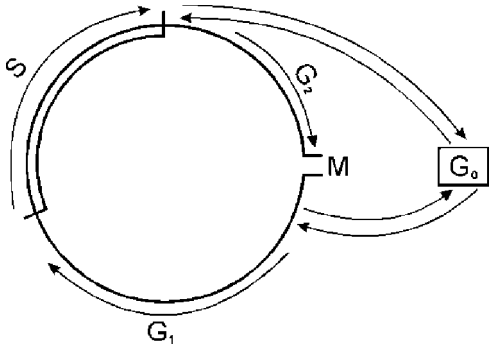

Рис. 7. Мітотичний цикл клітини: М — мітоз, G_1 — досинтетичний період, S — період синтезу ДНК; G_2 — післясинтетичний період; G_0 — фаза спокою (клітина переходить в неї або після завершення синтезу ДНК, або по закінченні мітозу); у фазі спокою клітина перебуває до тих пір, поки певний стимул не підштовхне її знову вступити в G_2- чи G_1-період)

Fig. 7. Mitotoc cell cycle: M – mitosis, G_1 – pre-synthesis period, S – DNA synthesis period; G_2 – post-synthesis period; G_0 – rest phase (the cell transfers to it either after completion of DNA synthesis or after mitosis completion the cell stays in the rest phase until a definite factor stimulates its transition to G_2- or G_1-period)

Відносні часові терміни кожної зі стадій клітинного циклу варіюють один відносно одного, і стадії за цим показником, зазвичай, розташовуються у такій послідовності:

$M<G_2<S<G_1$.

У тканинах з активним оновленням (наприклад, епітелій ворсинок кишечника, кістковий мозок, шкіра тощо), а також у злоякісних пухлинах, клітини яких характеризуються, зазвичай, високою проліферативною здатністю, термін клітинного циклу становить 10–48 годин: з них найкоротша — стадія М з тривалістю 30–60 хвилин, а найтривалиші — S і G_1.

У малооновлюваних тканинах більшість клітин перебуває в G_1-стадії, термін якої може сягати тижнів, місяців чи навіть років, як наприклад, у ЦНС. Таке ж спостерігається в окультних злоякісних пухлинах і латентних метастазах, які можуть клінічно проявитися через багато років після начебто вилікованої пухлини. Зважаючи на цю обставину, наразі виділено додаткову стадію клітинного циклу — G_0. Якщо клітина перебуває в такому стані, її прийнято вважати поза межами циклу, або у *стані спокою*. Такі клітини є резервом репопуляції тканини на випадок загибелі з різних причин частини пулу клітин, наприклад, відновлення росту пухлини після лікування.

Ще 1906 р. Бергоньє і Трибондо (Bergonie, Tribondeau) сформулювали закон, що став класичним:

«Ікс-промені діють на клітину з тим більшою інтенсивністю:

чим більша її репродуктивна активність,

чим більше вона буде поділятися протягом свого життя і

чим менш певна її морфологія і функція».

Фактично в цих положеннях в інтегрованій формі було сформульовано найважливіші закономірності біологічної дії ІВ на клітинному рівні.

Багато з променевих реакцій клітини завершуються відновленням, позаяк вони є наслідком ураження структур, втрата яких або швидко відбудовується, або залишається непоміченою. Такі минущі клітинні реакції називаються *фізіологічними,* або *кумулятивними ефектами опромінення*. Зазвичай, подібні реакції проявляються в найближчий час по опроміненні й згодом зникають. Найбільш універсальна з них — *затримка (пригнічення) клітинного поділу*, або *радіаційне*

блокування мітозів. Тривалість затримки поділу залежить від дози опромінення і проявляється в усіх без винятку опромінених клітин популяції, незалежно від подальшої долі кожної з них — виживе вона чи загине.

Час затримки поділу залежить також від стадії клітинного циклу, в якій клітина перебувала при опромінюванні. Затримка поділу буває найтривалішою у випадках опромінювання у стадії синтезу або після синтезу. Опромінювання під час мітозу в більшості випадків або незначно позначається на його тривалості, або ж мітоз завершується без затримки.

Серед проявів дії ІВ на життєдіяльність клітин пригнічення їх поділу є найважливішим. У зв'язку з цим під *клітинною загибеллю,* або *летальним ефектом опромінення* в радіобіології визнають втрату клітиною здатності до проліферації. А клітинами, що вижили, вважають ті, що зберегли здатність розмножуватися, тобто залишилися здатними до *клоноутворення*. Отже, в такому випадку йдеться про *репродуктивну загибель клітини*, найпоширенішу форму радіаційної інактивації їх.

Але після дії опромінення у високих дозах настає *повне пригнічення мітозу*, коли клітина продовжує жити, але незворотно втрачає здатність до поділу. Унаслідок такої реакції можуть утворюватися велетенські клітини, інколи навіть з декількома наборами хромосом — наслідком їх реплікації в межах неподіленої клітини (*ендомітоз*), які є нежиттєздатними.

Головна причина репродуктивної смерті клітин — структурні пошкодження ДНК унаслідок дії ІВ. Вони виявляються цитологічними методами як *хромосомні аберації* у вигляді фрагментації хромосом, формування хромосомних містків, дицентриків, кільцевих хромосом, внутрі- і міжхромосомних обмінів. Частина з них механічно перешкоджають поділу клітини, інші призводять до втрати генетичного матеріалу, що викликає нестачу метаболітів і, як наслідок, біологічну смерть клітини (рис. 8).

Інша форма радіаційної інактивації клітин — *інтерфазна загибель*, яка настає до початку мітозу. При надто високих дозах опромінення (у десятки і сотні грей) вона спостерігається безпосередньо «під променем» або невдовзі (протягом 2–6 год) після опромінення. Існує гіпотеза,

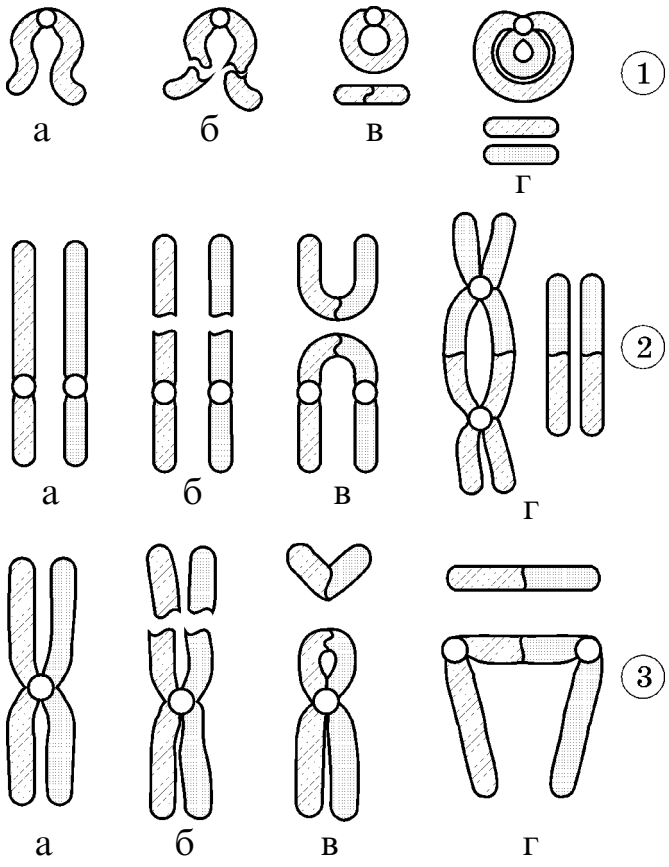

Рис. 8. Радіоіндуковані хромосомні аберації: 1 — утворення кілець: а — хроматида в ранній інтерфазі; б — радіоіндукований розрив кожного плеча хроматиди з утворенням «липких» кінців; в — «липкі» кінці з'єдналися з утворенням кільця і фрагмента; г— після хромосомної реплікації — подвоєння кільця і фрагмента; 2 — утворення дицентрика: а — окремі хроматиди двох ізольованих хромосом; б — радіаційні розриви в обох хромосомах; в — «липкі» кінці хромосом з'єдналися з утворенням обміну між хромосомами; г — реплікація під час синтетичної фази ДНК з утворенням дицентричної хромосоми і фрагментів; 3 — формування анафазного містка: а — хромосома в фазі G_2 після реплікації; б — радіоіндуковані розриви обох хроматид; в — «липкі» кінці з'єднались; г — в анафазі сегменти хроматину між центромерами розтягуються між двома полюсами вздовж клітини (E. Hall, 1978)

Fig. 8. Radiation induced aberrations: 1 — ring formation: a — chromatid in early interphase; б — radiation induced rapture of each chromatid shoulder with formation of "sticky" ends; в — "sticky" ends have joined forming a ring and a fragment; г — after chromosome replication, joining of the ring and fragment; 2 — dicentric formation: a — separate chromatids of two isolated chromosomes; б — radiation ruptures in the both chromosomes; в — "sticky" ends of chromosomes have joined forming exchange between chromosomes; г — replication during synthetic phase of DNA with formation of a dicentric chromosome and fragments; 3 — formation of anaphasis bridge: a — chromosome in G_2 phase after replication; б — radiation induced ruptures of the both chromatids; в — "sticky" ends joined; г — in anaphase, chromatin segments between centromeres speed out between two poles along the cell (E. Hall, 1978)

що інтерфазна загибель клітини є мітохондріальним шляхом *апоптозу*, який індукується ушкодженням ДНК дією радіації у високих дозах. *Апоптоз* — особливий програмований тип елімі-

нації клітини шляхом поділу її на частини («апоптозні тільця»), які далі фагоцитуються макрофагами і сусідніми клітинами.

В ядрі клітин міститься декілька десятків молекул ДНК із загальною довжиною 1–2 м. Вони мають постійний зв'язок з білками, які беруть участь у підтримці структури інтерфазного хроматину, формуванні хромосом і перенесенні генетичної інформації. Опромінення викликає різноманітні ушкодження ДНК, які стають головною причиною подальшої нежиттєздатності і загибелі клітини:

- розриви молекул;
- утворення лужно-лабільних зв'язків;
- втрату основ і зміни їх складу;
- зміни нуклеотидних послідовностей;
- зшивки ДНК—ДНК і ДНК—білок тощо.

Вже при дозі 1 Гр у кожній клітині людини пошкоджується приблизно 5000 основ молекул ДНК, виникає 1000 одинарних та 10–100 подвійних розривів, кожний з яких може стати причиною хромосомної аберації. Подвійні розриви молекул ДНК зазвичай завжди бувають фатальними для клітини.

Але ушкодження клітини не обмежується тільки ураженням ядерного апарату. Виникають структурно-метаболічні зміни також в органелах цитоплазми: мітохондріях — енергетичних «станціях» клітини, рибосомах — «фабриках» синтезу білків, лізосомах — «сховищах» ферментів тощо. Ушкодження органел мають різноманітний характер і різні наслідки для функціонування клітини залежно від її призначення в тканині і організмі. Має значення й ушкодження поверхневої оболонки клітини з підвищенням її проникності і, як наслідок, порушенням обміну речовинами з позаклітинним середовищем.

3. Тканинні і організмені ефекти

Якщо перейти від розгляду радіаційних подій в ізольованій клітині до рівня тканин чи організму, то виявиться, що всі явища істотно ускладнюються, що зумовлюється такими чинниками:

- не всі клітини уражуються рівною мірою,
- тканинний ефект не є сумою клітинних ефектів і
- за реакції сукупності тканин і організму в цілому важко, якщо взагалі можливо, виокремити різноманітні локальні ефекти і різновиди загальних реакцій.

Клітини тканин значною мірою залежні одна від одної й середовища. Фізіологічний і функціональний стан будь-якої клітини небайдужий не тільки для «сусідок», але й для всієї їх популяції у тканині. Добре відомо, наприклад, що загоювання рани забезпечується прискореним розмноженням залишкових клітин для заміщення втраченої частини, після чого темп клітинного поділу нормалізується. У механізмі таких стимулювальних і пригнічувальних впливів, яких зазнають клітини, беруть участь не тільки локальні фактори, але й системи загальної підтримки гомеостазу організму. Немає сумніву щодо участі тих же універсальних механізмів реалізації тканинних і системних реакцій на опромінення. Крім того, на тканинну радіочутливість великий вплив справляють й інші фактори, як-то ступінь кровозабезпечення, розмір опромінюваного об'єму тощо. Отже, радіочутливість тканини не слід розглядати тільки з позиції радіочутливості складових клітин, не беручи до уваги загальних морфофізіологічних факторів. Все це, безумовно, ускладнює оцінку радіочутливості тканини, але не відкидає все ж провідної ролі цитокінетики, яка визначає тип і ступінь променевих реакцій на всіх рівнях біологічної організації.

Закономірності ураження цілісного організму визначаються двома чинниками:

радіочутливістю тканин, органів і систем, роль яких істотна для виживання організму,

величиною поглинутої дози опромінення та її розподілом у просторі і часі.

Кожний з них окремо і в поєднані один з одним визначають *переважний тип променевих реакцій* (місцеві чи загальні), *специфіку і час їх появи* (ранні, затримані й пізні) та *значущість для організму.*

Класичним прикладом радіаційного ураження організму тварини і людини є *гостра променева хвороба*, яка виникає після загального рівномірного одноразового зовнішнього опромінення. В такому випадку опромінення діє водночас на всі системи, органи, тканини і клітини в однаковій дозі. Але найкращого розуміння основних проявів променевого ураження досягають їх зіставленням з поглинутою дозою саме в «критичних органах», під якими мають на увазі життєво важливі органи і системи, які в діапазоні дози наявного радіаційного впливу першими ви-

ходять з ладу, що й спричиняє загибель організму в певні терміни після опромінення.

Таким чином, *між рівнем поглинутої дози і середньою тривалістю життя існує строга залежність*, яка визначається радіочутливістю окремих критичних систем.

Порівняння радіочутливості окремих тканин необхідно робити тільки на підставі адекватних критеріїв. Наприклад, кістковий мозок і печінка дуже різні за радіочутливістю, разом з тим можна бачити в їх клітинах майже однакову кількість хромосомних аберацій за еквівалентних доз опромінення. Проте при порівнянні віддалених наслідків променевої дії на ці органи бачимо разючі відмінності. Отже, поняття радіочутливості тканин чи органів вельми відносне. *Загальну ж радіочутливість організму необхідно прирівняти до радіочутливості кісткового мозку, бо для загибелі організму достатньо радіаційної анаплазії останнього*.

Для кількісної оцінки радіочутливості організму використовують *криві виживаності*, або *смертності* (рис. 9), на осі абсцис яких відкладається доза тотального опромінення, а на ординаті — процент загиблих через певний час. Для всіх видів ссавців така крива має S-подібну форму: в діапазоні низьких доз загибель тварин відсутня взагалі, перші її випадки спостерігаються при дозі, яку називають *мінімально летальною,* при подальшому зростанні дози частість загибелі особин зростає, а на рівні певної дози, яка називається *абсолютно летальною*, гинуть всі опромінені тварини.

Кривими смертність–доза можна користуватися для порівняння радіочутливості тканин цілісного організму (наприклад, людини), проводячи дослідження на культурах ізольованих клітин, взятих із різних типів тканин. Саме в таких експериментах було створено для організму людини практично важливий ряд із тканин та органів у порядку зменшення їх радіочутливості: 1) *зародок*, 2) *плід*, 3) *лімфоїдні клітини*, 4) *кістковий мозок*, 5) *епітелій травного тракту*, 6) *яєчники*, 7) *яєчка*, 8) *ендотелій капілярів*, 9) *епітелій слинних залоз*, 10) *епітелій волосяних фолікулів*, 11) *зони росту кісток*, 12) *грудні залози*, 13) *кришталики*, 14) *потові і сальні залози*, 15) *епідерміс*, 16) *печінка, нирки*, 17) *кістки дорослих*, 18) *хрящ*, 19) *епітелій легеневих альвеол*, 20) *ЦНС*, 21) *м'язи*.

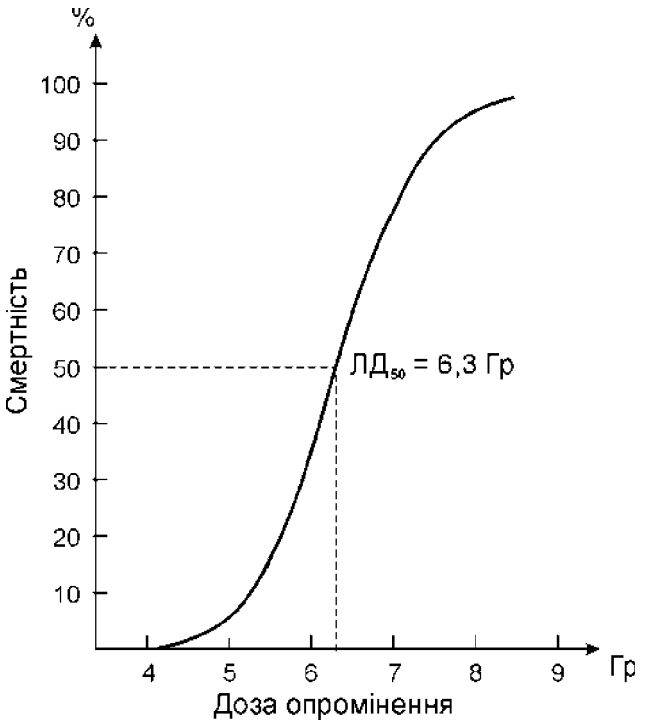

Рис. 9. Крива смертність–доза для ссавців при тотальному зовнішньому опроміненні. $ЛД_{50}$ — чисельний показник летальності тварин певного виду, який становить значення дози, при якій за певний час (зазвичай 30 діб) гине половина опромінених особин

Fig. 9. Mortality-dose curve for mammals at total external irradiation. LD_{50} – a numerical value of animals mortality of animals of a definite species, which equals the dose value at which half of the irradiated animals die during a definite period of time (usually 30 days)

Але існує також ранжування радіочутливості тканин за іншими критеріями, а саме за функціонально-морфологічними їх відгуками на опромінення в цілісному організмі. Відмінність ряду радіочутливості тканин за таким критерієм від уже наведеного полягає в тому, що *ЦНС*, *надниркові* та *щитоподібна залози* і *вегетативна нервова система* стоять зразу ж після *зародка* і *плоду*.

Існують індивідуальні, видові, статеві (самиці, зазвичай, менш чутливі до опромінення) і вікові відмінності в радіочутливості на рівні організму.

На рис. 10 наведено графік залежності радіочутливості мишей від їх віку. Як показник радіочутливості використано $ЛД_{50/30}$ (доза, за якої гине 50 % опромінених особин за 30 діб). Можна бачити, що 50 % молоді гине при дозі в 7 Гр, тобто її радіочутливість висока. Далі з віком радіочутливість зменшується ($ЛД_{50/30}$ зростає до 10 Гр і вище), виходить на коротке плато і при старінні знову збільшується.

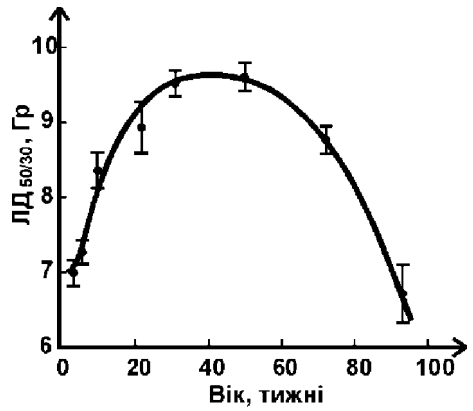

Рис. 10. Крива залежності радіочутливості від віку організму. Як показник радіочутливості взято $ЛД_{50/30}$, обернено пропорційну до радіочутливості

Fig. 10. Curve of dependence of radiosensitivity on the organism age. As radiosensitivity parameter, $LD_{50/30}$ was taken reversely proportional to radiosensitivity

Деякі дослідники схильні пояснювати також і міжвидові відмінності в радіочутливості організмів ссавців особливостями кінетики клітинних популяцій критичних органів, детермінантами ураження яких є відповідні стовбурові клітини.

Стосовно радіаційних уражень організму найважливіше значення мають дві системи з високою швидкістю клітинного оновлення — кровотворна і травна.

Кістковий мозок має вельми високу радіочутливість. Ураження системи кровотворення того чи іншого ступеня як типове явище спостерігається завжди після загального опромінення і навіть локального, зокрема при променевій терапії онкологічних захворювань. Як відомо, головне призначення кісткового мозку — продукування зрілих високодиференційованих клітин крові. У нормі вибування кожної клітини периферичної крові чи в іншому осередку організму компенсується утворенням в середньому однієї аналогічної клітини в кістковому мозку. Пройшовши один чи кілька поділів, клітина поступово диференціюється, втрачає здатність до подальшого поділу і входить у *непроліферуючий пул*, де остаточно дозріває і стає функціонально повноцінною, в стані максимальної підготовленості до заміщення тієї клітини крові, що вибула із функціонування за будь-яких обставин. Таким шляхом функціонуюча система самопідтримується, постійно заміщуючи втрати, які стають своєрідним стимулом активації всіх попередніх стадій розвитку спеціалізованих клітин, внаслідок чого здійснюється *перманентне клітинне оновлення організму*.

Під впливом опромінення в будь-якій клітинній системі оновлення виникають порушення динамічної рівноваги між окремими пулами клітин, спричиняючи функціональні розлади в самій системі і, вочевидь, відповідні наслідки для організму. Якісне уявлення про механізми таких порушень можна отримати з аналізу реакцій опромінених ізольованих клітин, закономірності яких зберігаються і для тканинних систем цілісного організму. Це базові радіобіологічні реакції клітин, що визначають типові порушення кожної системи оновлення:

- тимчасове призупинення поділу всіх клітин, незалежно від наступної долі кожної з них — виживе вона чи ні;
- загибель малодиференційованих клітин і тих, що перебувають у стадії поділу;
- мінімальні зміни тривалості процесу клітинного дозрівання, а також часу життя більшості зрілих клітин і швидкості притоку їх у функціональний пул.

У результаті три пули клітин — стовбурових, клітин у поділі і дозріваючих — спустошуються зразу і швидко (найближчі дні після опромінення), а пул зрілих функціонуючих спустошується поступово, пізніше, коли їх природні втрати перестають компенсуватися зі спустошених попередніх пулів. Саме з цієї причини при опроміненні у дозах до 10 Гр в організмі розвивається типовий *кістковомозковий синдром*.

Розглянуті механізми радіаційних уражень системи кровотворення типові для всіх систем клітинного оновлення, зокрема клітин травної системи, в якій за аналогічним сценарієм розвивається *кишковий синдром* радіаційного ураження.

Загальні радіаційні реакції ссавців як функція дози і часу визначаються чотирма кардинальними параметрами клітинних популяцій:

- розміром пулу стовбурових клітин;
- радіочутливістю і здатністю клітин до наступного відновлення;
- клітинною проліферацією і
- терміном функціонування зрілих елементів.

Врахування цих чинників дає можливість досить надійно прогнозувати розвиток подій після

опромінення окремих ділянок тіла, якщо визначено параметри опромінених тканин.

При тотальному опроміненні багатоклітинного організму в багатьох тканинах можна виявити не загибель клітин, а зміни їх функцій, появу в тканині кількісних і якісних зрушень у складі метаболітів. Останні, діючи на нервові рецептори, розповсюджуючись гуморальним шляхом, викликають глибокі зміни в нейрогуморальній регуляції обміну речовин і, як результат, *генералізацію патофізіологічних порушень* (так звана «*дія на відстані*»). Зміни обміну речовин у залозах внутрішньої секреції спричиняє викид у кровотік неадекватної кількості гормонів, що викликає порушення білкового, вуглеводного і ліпідного обмінів. Одну з універсальних і специфічних рис радіаційного ураження цілісного організму становить *генералізоване підвищення проникності гістогематичних бар'єрів* в усіх без винятку тканинах і органах, зокрема *гематоенцефалічного*, наслідком чого стає дезорганізація регуляції обміну речовин між клітинами і позаклітинним середовищем, зміна лужно-кислотної і електролітної рівноваги у тканинах і крові.

Залози внутрішньої секреції радіорезистентні, хоча при загальному опроміненні їх реакції загальновідомі. Але важко встановити, чи є ці реакції результатом ураження безпосередньо клітин залози, чи відображенням реакції ендокринних залоз на дію радіації на інші системи і весь організм. Можна припускати, що порушення балансу гормонів, особливо щитоподібної залози, після загального опромінення можуть бути наслідком відомої реакції гіпоталамо-гіпофізарної системи, зважаючи на тісний зв'язок між тиро-, адрено- і гонадотропними гормонами гіпофіза.

4. Пострадіаційне відновлення

Радіаційні ушкодження частково, залежно від дози опромінення, репаруються. Така спроможність тканин, органів чи організму пов'язана зі здатністю клітин до відновлення від ушкоджень, спричинених опроміненням. Феномен пострадіаційного відновлення зумовлений тим, що за певних умов летальні ушкодження клітини можуть бути ліквідовані системами репарації. Наприклад, доза опромінення ікс-променями в 700 рад за годину викликає певного ступеня еритему шкіри. Щоб викликати таку ж еритему двома опроміненнями з інтервалом між ними в 24 години, кожна доза з цих двох опромінень має бути 535 рад, тобто в сумі становити 1070 рад. Отже, певно, за 24 години між опромінюваннями відбувається часткове відновлення після дії першої дози. Позаяк друге опромінення в 535 рад викликає еритему такого ж ступеня, як і доза одноразового опромінення в 700 рад, то це означає, що від першого з двох опромінень через 24-годинний інтервал «залишилося» тільки 165 рад, і, таким чином, шкіра відновилася від дії 370 рад першого з двох опромінень.

Проте, якщо клітини загинули, ушкодження може бути усуненим тільки шляхом заміни їх новими. Одним із факторів виживання організму після опромінення у високій дозі стає наявність залишку життєздатних стовбурових клітин критичних систем — кровотворної, травної, імунної. Зокрема, лікувальний ефект трансплантації кісткового мозку визначається виключно наявністю в ньому стовбурових клітин.

Стан сталої динамічної рівноваги будь-якої клітинної популяції в живому організмі, необхідної для нормальної життєдіяльності, підтримується системами оновлення клітин. Втрата частини клітин у системі з будь-якої причини, зокрема внаслідок опромінення, відновлюється виникненням відповідної кількості нових. Клітини кожного типу мають свою характерну середню тривалість життєвого циклу і відповідно різняться темпом оновлення. Отже, дорослий організм постійно перебуває в стані строго збалансованого клітинного самооновлення, яке відбувається неперервно в низці його життєво важливих систем. Щохвилинно в кожній з них відмирають десятки і сотні тисяч «віджилих» клітин, які замінюються новими, готовими через точно визначений термін «пожертвувати» собою, і так — до кінця життя організму. Ця стійка рівновага системи клітинного самооновлення, надто важлива для надійної підтримки життєздатності організму за будь-яких обставин, називається *клітинним гомеостазом*. *Фаза відновлення* після опромінення забезпечується невеликим залишком життєздатних стовбурових клітин, які після спустошення можуть проявляти здатність до необмеженого розмноження. При цьому вони продукують не тільки собі подібні клітини для поповнення власного пулу, але і клітинні елементи, необхідні для репопуляції

диференційованих клітин. Через те, що на ці процеси потрібен час, відновлення клітинного складу тканини затримується, і перший етап початку відновлення відбувається повільно.

Якщо дозу опромінення розділити на кілька фракцій, її біологічна ефективність зменшується. Це зумовлюється двома головними чинниками:

• репарацією сублетальних ушкоджень у проміжок часу між фракціями і

• заміною летально ушкоджених клітин репопуляцією збережених.

Заміна клітин може здійснюватися також міграцією здорових клітин із неопромінених ділянок.

5. Детерміновані і стохастичні ефекти ІВ. Низькі (малі) дози опромінення. Гормезис. Гіпотези порога дії низьких доз

Усе розмаїття реакцій і уражень організму соматичного характеру, наприклад, еритема, дерматити, виразки тощо, прийнято називати *детермінованими, або нестохастичними ефектами,* які визначаються *як такі, що мають поріг виникнення, а ступінь їх тяжкості зростає з дозою* (рис. 11а). Такі ураження можуть виникати лише після дії високих доз опромінення, що перевищують *толерантну дозу* для опроміненої тканини.

На відміну від соматичних, *генетичні (тератогенні)* і *канцерогенні* ефекти ІВ не залежать від дози за ознакою їх тяжкості (ефект проявляється за принципом «все або нічого»), від дози залежить лише *імовірність* їх появи — зі зростанням дози *збільшується частість виникнення* (рис. 11б). Такі ефекти отримали назву *стохастичних* (*імовірнісних*).

Порогова доза — це значення дози, за якої виникає певний ефект радіації щонайменше у 1–5 відсотків опромінених індивідуумів. Відповідно, термін *поріг виникнення ефекту радіації*, або просто *поріг* означає наявність здатності тканини витримувати опромінення в *допорогових дозах*, тобто нижчих за порогову, без ознак розвитку певного ефекту радіації. Для різних радіаційних ефектів порогова доза різна. Так, у випадку шкірної еритеми вона становить 6–8 Гр одноразового гамма-опромінення, що вище за дозу, мінімально необхідну для виникнення тимчасової епіляції (3–5 Гр), але нижче доз, що викликають такі шкірні ефекти, як суха та волога десквамація, виразка тощо.

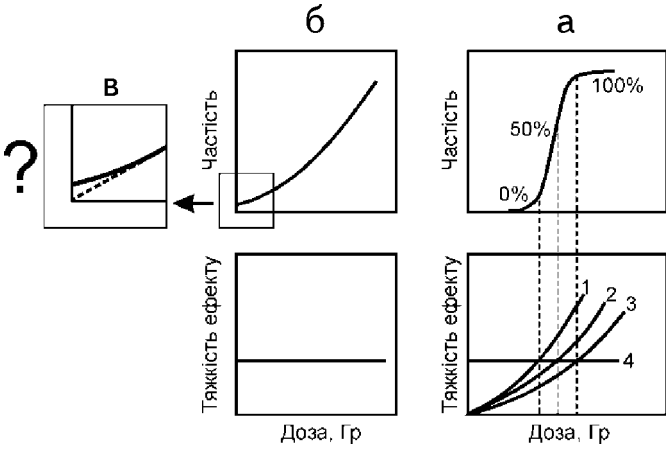

Рис. 11. Відмінності між кривими доза–ефект для нестохастичних і стохастичних ефектів: а — нестохастичні ефекти; б — стохастичні ефекти; в — зона доз гіпотетичного порога стохастичних ефектів; 1, 2, 3 — індивідуальні відмінності радіочутливості для нестохастичних ефектів, 4 — поріг виникнення патологічного стану (Публікація 41МКРЗ, 1987)

Fig. 11. Difference between dose-effect curves for non-stochastic and stochastic effects: а – non-stochastic effects; б – stochastic effects; в – dose zone of hypothetical threshold of stochastic effects; 1, 2, 3 – individual differences of radiosensitivity for non-stochastic effects, 4 – threshold of a pathological state development (Publication 41 ICRP, 1987)

Термін *толерантна доза* використовується для позначення максимальної дози, опромінення в якій тканина може перенести без розвитку в ній будь-якого *клінічно значущого детермінованого ефекту*. Відповідно, терміном *толерантність тканини* позначається її здатність перенести опромінення без розвитку такого ефекту.

У патогенезі детермінованих ефектів вирішальну роль відіграє загибель клітин, тому взаємозв'язок цих ефектів з дозою і часом, що минув після опромінення, великою мірою залежить від виживання клітин в ураженій тканині. Багато з важливих таких ефектів проявляються лише після тривалого латентного періоду. У зв'язку з цим розрізняють *ранні ефекти*, які проявляються *протягом ста діб*, і *пізні,* або *віддалені*, що розвиваються через кілька місяців чи років.

Стохастичні ефекти ІВ — це генні мутації, поява яких у *статевих клітинах* (яйцеклітинах чи сперматозоїдах) викликає *уроджені вади* розвитку (тератогенний ефект) від необтяжливого дальтонізму до таких тяжких станів, як синдром Дауна, хорея Гентінгтона тощо. Уроджені вади можуть бути пов'язані також з опроміненням in utero зародка. Крім уроджених соматичних вад

після опромінення ембріона може спостерігатися затримка розумового розвитку.

Інша форма стохастичних ефектів спостерігається після опромінення *соматичних клітин* — в них ІВ викликають *бластотрансформацію*, тобто переродження диференційованих клітин на недиференційовані з втратою контролю розмноження, що клінічно проявляється у вигляді злоякісних пухлин. Цей стохастичний ефект має назву *канцерогенного ефекту радіації.*

Морфологічний тип таких *радіоіндукованих пухлин* залежить від морфологічного типу «материнської», тобто вихідної клітини, яка зазнала мутації і, як наслідок, дала початок злоякісному росту. Із клітин епітеліального походження розвиваються карциноми різних морфологічних варіантів, мезенхімальні ж клітини дають початок саркомам. Лейкози є похідними від клітин кровотворних тканин.

Існують різні погляди щодо наявності дозового порога стохастичних ефектів. Спостереження за опроміненими людьми і експериментальні дані дозволяють чітко визначитися щодо співвідношення величини дози і ймовірності біологічної дії ІВ стохастичного характеру при великих дозах опромінення (рис. 12а). Проте, даних мало і вони переважно непевні щодо такого співвідношення для рівня низьких доз. Зазвичай гіпотези про їх стохастичні ефекти приймають на основі екстраполяції даних для високих доз на рівень низьких. Немає досі підстав для певного вибору однієї з трьох гіпотез щодо співвідношення дози і ймовірності ефекту як істинної (рис. 12б):

1 — лінійне співвідношення без порога,

2 — лінійне співвідношення з порогом,

3 — нелінійне співвідношення з початковим повільним зростанням ефекту ІВ і наступним прискоренням його величини.

Лінійне співвідношення без порога означає пряму лінійну залежність частоти виникнення розглядуваних ефектів ІВ від величини дози, починаючи від «нульової» дози. Навпаки, *лінійне співвідношення з порогом* припускає наявність дозового порога виникнення стохастичних ефектів.

З гуманних міркувань у радіологічному захисті прийнято як офіційну *гіпотезу безпороговості стохастичних ефектів радіації.*

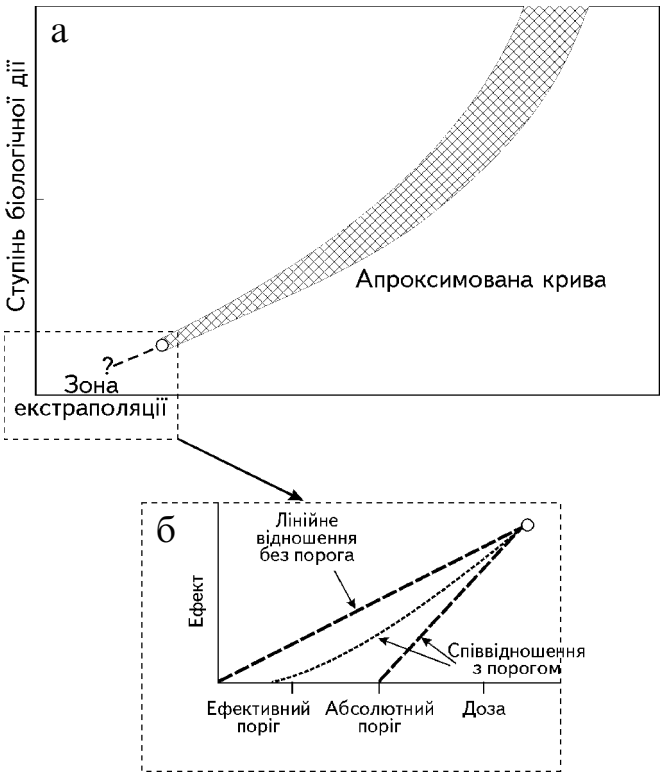

Рис. 12. Проблема порога стохастичних ефектів низьких доз опромінення ІВ: а — висновки щодо відсутності порога таких ефектів низьких доз робляться шляхом екстраполяції даних, встановлених, певно, для високодозного опромінення; б — але існують три гіпотези щодо цієї проблеми, представлені схематично на нижньому графіку: 1 — лінійне співвідношення доза–ефект без порога; 2 — лінійне співвідношення з порогом; 3 — нелінійне співвідношення з початковим повільним зростанням ефекту ІВ і наступним прискоренням зростання його величини (М. Тюбіана та співавт., 1969)

Fig. 12. The problem of stochastic effects threshold of low-dose ionizing radiation. a — conclusion about absence of threshold of these effects of low doses are drown by means of data extrapolation, found definitely for high doses; б — but there are three hypotheses about this problem, presented on the lower graph: 1 — linear dose-effect dependence without threshold; 2 — liner dependence with threshold; 3 — non-linear dependence with initial slow ionizing radiation effect increase followed by acceleration of its value increase (М. Тюбіана та співавт., 1969)

Час, потрібний для розвитку радіоіндукованих пухлин до клінічно значущих розмірів, залежить від швидкості проліферації вихідної клітини. Перші випадки карцином і сарком зазвичай можуть реєструватися через 10–12 років після дії радіації, максимум же їх припадає на термін 25–30 років, а лейкози в постраждалих від атомного бомбардування японських міст були зареєстровані вже через 2–3 роки (перші випадки) з максимумом на 7-й рік.

Виникнення стохастичних ефектів при опроміненні у низьких дозах має низьку ймовірність,

тому ризики їх появи можуть бути значущими лише при опроміненні великих груп людей. Вихід цих ефектів визначається колективною дозою, одиницею якої є людино-зіверт, і поява їх у окремого індивіда є непередбачуваною подією. Встановлено, що ризик цих захворювань складає, за даними МКРЗ, 5,5 випадку на 100 люд.-Зв.

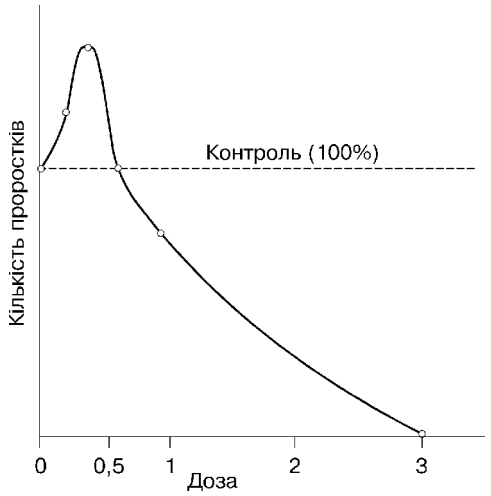

Рис. 13. Графік розвитку рослин залежно від поглинутої дози ІВ. Стимуляція їх розвитку при ультранизьких дозах, що зменшується в міру зростання дози опромінення; при подальшому збільшенні дози стимуляція змінюється пригніченням

Fig. 13. Graph of development of plants depending on absorbed ionizing radiation dose. Stimulation of its development at ultralow doses decreasing with increase of irradiation dose; with further dose increase stimulation changes into inhibition

В експериментах на рослинах і клітинах теплокровних тварин на користь порогової гіпотези встановлено явище *радіаційного гормезису* — сприятливої дії ультранизьких доз опромінення (рис. 13). Термін був запропонований 1980 р. Т.Д. Лаккі. Механізм цього явища на рівні клітин полягає в ініціюванні синтезу білків, активації генів і репарації ДНК у відповідь на дію ІВ, близьку за дозою рівневі природного радіаційного фону. Ця реакція врешті-решт спричиняє активацію мембранних рецепторів, проліферацію спленоцитів і стимуляцію імунної системи (Публікація МКДАР, 1994).

Цілком зрозуміло, що проблема порога стохастичних ефектів належить до рівня *низьких доз*, значення яких лежать нижче порога детермінованих ефектів. Національна Комісія з радіологічного захисту США визначає *високі дози*, як «*такі, що перевищують рівень, за якого більшість біологічних подій відхиляється від лінійної залежності від дози опромінення*». Межею між низькими і високими дозами прийнято значення дози у 200 мЗв. «*Висока потужність дози визначається як потужність, за якої неможлива репарація радіаційних ушкоджень (приблизно 100 мЗв/год)*» (Публікація 116 НКРЗ, 1993).

Надходження до редакції 23.11.2011.

Прийнято 23.11.2011.

Адреса для листування:
Пилипенко Микола Іванович,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна