

Э. Я. ГРАЕВСКИЙ

**СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ БЕТА-ЛУЧАМИ БАКТЕРИЙ
К ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ И НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР
И К ПОВТОРНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ БЕТА-ЛУЧЕЙ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 31 I 1952)

Среди зарубежных ученых широкое распространение имеет так называемая теория мишени, с помощью которой делаются попытки объяснить биологическое действие ионизирующих излучений. Эта теория, тесно связанная с формально-генетическим учением о мутациях, в течение ряда лет не критически воспринималась и некоторыми советскими физиками и биологами.

Теория мишени (hit theory, Treffentheorie) исходит из результатов исследования формы кривых поражения растительных и животных организмов различными видами ионизирующих излучений. Базируясь на нарушении закона пропорциональности между поглощенной энергией излучения и наблюдаемым биологическим эффектом, теория предполагает, что в клетке или в многоклеточном организме существует особая чувствительная область очень малых размеров. Гибель клетки или организма наступает в результате процессов ионизации внутри этой области, вызванных одним (для «одноударного» организма) или несколькими (в случае «многоударного») фотонными или корпускулярными ударами. Гибель каждого данного организма рассматривается как событие случайное, связанное с попаданием специфического числа квантов излучения (одного или нескольких) в чувствительную область, и различия в количестве ударов, необходимых для поражения этой области, являются основной причиной различной радиочувствительности у разных организмов (1).

Ряд известных в радиобиологии фактов заставил сторонников теории мишени выдвинуть для своего объяснения дополнительные допущения. Воздействие некоторыми внешними агентами, например повышенной или пониженной температурой во время облучения, существенно влияет на результат последнего, меняя радиочувствительность бактерий, растительных и животных клеток и целых организмов. С позиций теории мишени для объяснения этих фактов было предположено, что указанные факторы изменяют размеры чувствительной области, в связи с чем увеличивается или уменьшается вероятность поражения ее фотонами или корпускулами (2). Отмечаемое в литературе изменение чувствительности биологического объекта под влиянием ионизирующего излучения к последующим температурному или иным воздействиям может быть объяснено в рамках теории мишени «многоударностью» чувствительной области у данных объектов, в связи с чем физиологическое состояние последних и отношение к последующим воздействиям определяется количеством пораженных чувствительных центров.

Обоснованность или необоснованность этих положений теории мишени могла быть экспериментально проверена на «одноударных» организмах путем сопоставления чувствительности облученных и необлученных

объектов к последующему действию другим или тем же самым фактором. С точки зрения теории мишени, уцелевший после облучения «одноударный» организм ничем не должен отличаться от необлученного и не должен обнаруживать каких-либо отличий в чувствительности к последующим воздействиям.

Настоящее исследование представляет собой проверку теории мишени, проведенную на «одноударном» организме — кишечной палочке (*Bacterium coli commune*).

Облучение бактерий производилось радоном. Суточные культуры кишечной палочки, выращенной на мясопептонном агаре при температуре 37°, разводились физиологическим раствором до концентрации $1 \cdot 10^9$ микробных клеток в 1 мл. По 0,5 мл такого физиологического раствора со взвешенными в нем микроорганизмами наливалось в узкие стеклянные пробирки диаметром 0,3 см. Непосредственно в физиологическом растворе помещались один или несколько капилляров с эманацией радия длиной 1,5—3 см. Доза эманации радия в различных опытах варьировалась от 0,002 до 0,85 mcd. Полученный в наших опытах эффект должен быть, главным образом, отнесен за счет активности β -лучей. Облучение бактерий производилось в течение 2—60 мин. при температуре 20°. Затем состояние жизнедеятельности выживших облученных бактерий определялось их отношением к пониженным и повышенным температурам, а также к повторному воздействию эманации радия. Критерием степени повреждения бактерий служили различия в их способности к размножению.

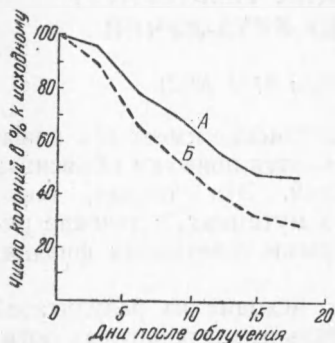


Рис. 1. Отмирание необлученных (А) и облученных (Б) бактерий, содержащихся после облучения при температуре 7°

В опытах с влиянием пониженных температур после облучения равные объемы физиологического раствора с освещенными и контрольными, необлученными, бактериями разводились одинаковым количеством физиологического раствора и оттуда производился высеv определенных количеств материала на агаровую среду (Эндо) в чашки Петри. Последние помещались в холодильник при 7° и оттуда через определенные сроки часть чашек с облученным и контрольным материалом переносилась в термостат с температурой 37°. На следующие сутки подсчитывалось число колоний бактерий, выросших на контрольных и опытных чашках. Средние числа колоний, выращенных в контроле и после облучения через разные сроки пребывания при низкой температуре, выражались в процентах по отношению к исходному числу освещенных и контрольных культур. Суммарные результаты из 4 серий опытов (80 опытов) представлены на рис. 1.

В опытах с воздействием после облучения повышенных температур облученные и контрольные бактерии сразу после облучения одновременно подвергались влиянию температур 39 и 41° в течение 15 мин., после чего облученные и контрольные бактериальные взвеси разводились равными объемами физиологического раствора и высевались на ту же агаровую среду в чашки Петри. Колонии бактерий, выросшие за сутки при температуре 37°, подсчитывались на контрольных и опытных чашках, и средние числа колоний, выросших после воздействия указанных температур, в контроле и после облучения выражались в процентах по отношению к исходному их числу. Результаты 11 серий опытов (105 опытов) представлены на рис. 2.

Полученные данные показывают, что продолжительное воздействие пониженной температуры после облучения выявляет значительные различия в чувствительности к нему облученных и необлученных бактерий.

Содержащиеся при этой температуре организмы постепенно отмирают, однако освещенные клетки погибают существенно раньше необлученных. Так, гибель 50% необлученных клеток наблюдается в среднем в течение 14 суток, тогда как для бактерий, выживших после облучения, этот срок сокращается до 10 суток. Таким образом, выжившие после воздействия β -лучей микроорганизмы по сравнению с необлученными хуже переносят последующее пребывание при пониженных температурах.

Точно так же воздействие на облученных и контрольных бактерий высоких температур выявляет значительно более высокую стойкость к нагреванию контрольных, неосвещенных организмов. Микроорганизмы, облученные даже самыми малыми дозами (0,002 mcd), практически не выдерживают 15-минутного нагрева ни до 39°, ни тем более до 41°. Следовательно, эти бактерии, хотя и уцелели от действия β -лучей, претерпели резкие изменения, проявившиеся в повышенной чувствительности к высоким температурам.

Третья серия опытов была посвящена сравнению стойкости необлученных контрольных бактерий и микроорганизмов, облучавшихся β -лучами в дозах 0,015—0,083 mcd, к повторному воздействию β -лучей (дозы 0,015—0,11 mcd). Опытные бактерии через разные сроки после первого облучения (30—180 мин.) подвергались кратковременному (3—20 мин.) повторному облучению в указ-

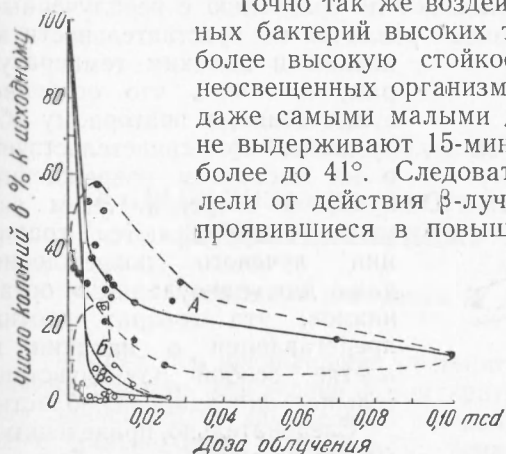


Рис. 2. Зависимость степени повреждения бактерий, облученных разными дозами β -лучей, от последующего воздействия в течение 15 мин. температур 20° (A), 39° (B) и 41° (B)

занных дозах. Одновременно с ними облучались контрольные, предварительно необлученные микроорганизмы. Дальнейшая работа с материалом производилась так же, как и в предыдущих 2 сериях опытов. Результаты 5 серий опытов (38 опытов) сведены на рис. 3.

При сопоставлении стойкости к β -излучению контрольных и уже облучавшихся бактерий видно, что их радиочувствительность различна: контрольные, впервые подвергающиеся облучению бактерии обнаруживают более высокую стойкость к действию лучей по сравнению с уже облучавшимися опытными микроорганизмами. При применявшихся нами количествах радиации способность к размножению среди необлученных организмов сохраняют в среднем 75,3% клеток, тогда как в случае бактерий, ранее облучавшихся, эта величина снижается до 57,4%. Таким образом, предварительно облученные бактерии, признаваемые «одноударными» и с точки зрения теории мишени не получившие ни одного попадания в чувствительную область, все же оказались существенно сенсибилизированными к повторному воздействию радиации.

Можно было бы допустить, что выжившие после облучения, но поврежденные бактерии в наших опытах получили это повреждение не в результате действия самих β -частиц, а вследствие влияния на них облученной среды (физиологического раствора) или токсического действия продуктов распада погибших от облучения клеток. Такое объяснение, однако, не соответствует действительности по следующим причинам. Физиологический раствор, подвергшийся действию β -лучей в дозе, в 5 раз превышающей примененную нами в этих опытах, с большим количеством в нем погибших микроорганизмов, не оказывает токсического влияния на кишечную палочку. Кроме того, повреждение освещенных бактерий оказывается одинаковым как при немедленном последующем воздействии высокой или низкой температурой или β -излучением, так и при воздейст-

вии этими агентами через отдаленные сроки. Таким образом, в наших опытах повреждение бактерий при облучении и, в частности, их сенсбилизация к повторному воздействию агентов, должны быть целиком отнесены за счет непосредственного влияния радиации на микробные клетки.

Результаты настоящего исследования дают экспериментальные доказательства несостоятельности теории мишени. «Одноударные» микроорганизмы, сохраняющие жизнеспособность после воздействия на них ионизирующего излучения, обнаруживают по сравнению с необлученными контрольными бактериями резкое различие в чувствительности к низким и высоким температурам, а также, что особенно существенно, к повторному облучению, что свидетельствует о их частичном повреждении лучистой энергией. Этим самым обнаруживаются градации лучевого повреждения даже для «одноударных» организмов, что говорит против представления о наличии в клетке особой радиочувствительной «одноударной» области.

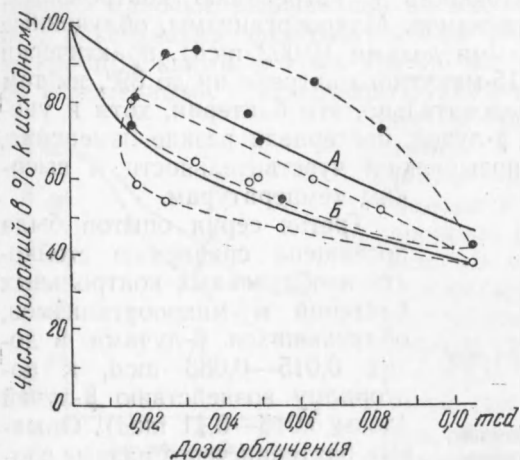


Рис. 3. Отмирание однократно (контрольных — А) и повторно (опытных — Б) облученных бактерий в зависимости от дозы облучения

Следовательно, приведенные факты не могут быть объяснены с точки зрения теории мишени, для которой повреждающее действие ионизирующей радиации на «одноударный» организм *Bacterium coli* должно подчиняться принципу «все или ничего». Полученные же нами данные доказывают, что повреждение бактерий градуально. При этих условиях естественно ожидать, что результат облучения должен зависеть также от биологической вариабельности объекта и способности его к репарации. Эти биологические особенности совершенно игнорируются теорией мишени в отношении «одноударных» объектов. Понятно, что тем самым доказывается ошибочность представления не только об «одноударности», но и «многоударности», поскольку понятие о «многоударных» биологических объектах было введено как вынужденное дополнение к представлению об «одноударности».

Значительный материал, накопленный за последние годы в экспериментальной и практической медицине, свидетельствующий о возможности влиять с помощью внешних агентов на лучевое повреждение живого вещества, также не может быть осмыслен с позиции теории мишени и убеждает нас в градуальном характере лучевых повреждений, что открывает определенные перспективы к их лечению.

Поступило
29 I 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. Lea, *Actions of Radiation on Living Cells*, Cambridge Univ. Press, 1946.
- ² C. Allsopp and D. Catcheside, *Nature*, **161**, 1011 (1948).