

РАДИАЦИОННЫЕ И РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание

Первые радиобиологические эксперименты в ОИЯИ

Создание сектора биологических исследований

Становление отдела биофизики ЛЯП

Отделение радиационных и радиобиологических исследований ОИЯИ

Международное сотрудничество

Подготовка научных кадров

Первые радиобиологические эксперименты

Первые радиобиологические эксперименты в ОИЯИ были начаты в далеком 1959 году на 6-метровом протонном синхроциклотроне ЛЯП. Эти исследования проводили сотрудники лаборатории радиотоксикологии и клиницисты Института гигиены труда и профессиональных заболеваний АМН СССР под руководством заведующей лабораторией проф. Э.Б.Курляндской и директора Института академика А.А.Летавета. В начале 1960 г. на территории ЛЯП была организована лабораторная база этого Института, смонтирован маленький "финский" домик во дворе ЛНФ рядом с теперь уже бывшим павильоном физических измерений ЛЯП (он существует до сих пор). И на этой базе начали работать первые сотрудники, постоянно живущие в Дубне со статусом прикомандированных к ЛЯП. Перед исследовательским коллективом стояли задачи сравнительной оценки воздействия разных доз протонного и гамма-излучений на организм экспериментальных животных. Получение такого рода данных служило бы необходимой базой для разработки мер по снижению степени вредного влияния корпускулярных излучений на организм человека и в итоге создания нормативов для персонала, работающего в смешанных полях ионизирующих излучений.

В эти же годы в нашей стране возник ряд актуальных задач, связанных с началом космической эры и освоением околоземного космического пространства. Острая необходимость быстрого решения этих задач стимулировала проведение широкомасштабных радиобиологических исследований и, в конечном итоге, определила фронт выполняемых работ на установках ОИЯИ. Запущенные в тот период искусственные спутники Земли и космические корабли обнаружили высокий уровень доз ионизирующих излучений в околоземном космическом пространстве. Выяснилось, что в космосе присутствуют различные виды ионизирующих излучений, имеющие сложный зарядовый и энергетический спектры. При подготовке первых полетов животных и человека в космос не было ясности в том, как будут вести себя живые организмы в условиях многокомпонентного радиационного воздействия, в том числе при действии протонов высоких энергий, генерируемых Солнцем и исходящих из глубин Галактики. Решить эту задачу стало возможным в наземных условиях, облучая биологические объекты на первом в Дубне 6-метровом ускорителе протонов, генерирующем пучки протонов с энергией до 660 МэВ. Целью данных работ являлось установление величины относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонов высокой энергии, т.е. необходимо было установить – насколько более (или менее) эффективны высокоэнергетичные протоны по сравнению с рентгеновским или гамма-излучением при действии на живые организмы. При краткосрочных полетах в околоземном космическом пространстве радиационная опасность обусловлена в основном протонами, составляющими излучение радиационного пояса Земли или генерируемыми в результате хромосферных вспышек на Солнце. Наибольший вклад вносят протоны с энергиями в диапазоне 100 - 700 МэВ. Поэтому первоочередной задачей становилось исследование влияния протонов разных энергий на организм человека и поиск способов защиты космонавтов от их негативного влияния во

время полетов.

В ходе обсуждения всей совокупности вопросов в руководящих органах страны была выработана программа исследований и пути ее реализации. В декабре 1963 г. в Москве был создан Институт медико-биологических проблем МЗ СССР, возглавляемый академиком А.В.Лебединским, и специальное подразделение, руководимое проф. Ю.Г.Григорьевым. В Дубне при ЛЯП заработала стационарная лаборатория – филиал одного из подразделений ИМБП, которая являлась, по сути, базой для проведения работ по облучению различных биологических объектов разными видами ионизирующих излучений. На синхроциклотроне проводили эксперименты по облучению разных животных (крысы, мыши, собаки и даже обезьяны), растительных объектов, а также культивируемых клеток млекопитающих и человека протонами с энергиями от 25 до 645 МэВ. Группа физиков ИМБП обеспечивала выведение пучков протонов с разными энергиями и дозиметрию при облучении биообъектов, используя блоки тканеэквивалентных поглотителей.

На этом ускорителе проводили свои опыты не только сотрудники ИМБП, но и специалисты из других институтов АН СССР, АМН СССР, Минздрава СССР. В соответствии с разработанной в АН СССР программой "Интеркосмос" в этих работах широко участвовали ученые из других стран - Болгарии, Венгрии, ГДР, Польши, Румынии, Чехословакии.

Изучались реакции разных клеточных и тканевых систем при воздействии острого, фракционированного и хронического протонного облучения. Исследовалось также модифицирующее влияние разных видов физических и химических агентов на радиационные эффекты. Большой объем работ был выполнен по оценке радиационной опасности при кратковременных и длительных космических полетах человека, работы по установлению допустимых уровней облучения, велась разработка методов физической защиты от космической радиации и т.д.

В 1967 г. был издан первый сборник статей "Биологическое действие протонов высоких энергий" под ред. Ю.Г.Григорьева, где были обобщены результаты исследований на синхроциклотроне ЛЯП ОИЯИ. По полученным материалам были защищены многие десятки кандидатских и докторских диссертаций, написаны многочисленные статьи и монографии, посвященные этой проблеме. Анализ полученных данных по реакции клеток и тканевых систем организмов показал, что по своему воздействию протоны высоких энергий аналогичны воздействию электромагнитных видов излучений - гамма- и рентгеновских лучей. Однако отмечено повышение относительной биологической эффективности протонов при снижении их энергии до 25 МэВ и ниже.

В условиях длительных космических полетов, наибольшую опасность, как оказалось, может представлять Галактическое космическое излучение (ГКИ). Было выяснено, что ГКИ, состоит из практически всех элементов, составляющих периодическую таблицу Д.И.Менделеева. Наибольший вклад в интегральный поток тяжелых ядер ГКИ вносят ядра группы углерода и железа, ускоренные в космосе до гигантских энергий. Хотя потоки этих частиц невелики (за год полета вне магнитосферы Земли приходится примерно 10^5 частиц/см²) их повреждающее влияние на организм может быть крайне неблагоприятным. Изучение особенностей биологического действия тяжелых заряженных частиц и тем самым моделирование влияния на живые системы ядер ГКИ можно было осуществлять в тот период на ускорителе тяжелых ионов У-300 Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ. Г.Н.Флёрв активно поддержал обращение

руководителей ИМБП – академика В.В.Парина и вскоре, сменившего после его кончины академика О.Г.Газенко, и предоставил возможность проводить радиобиологические эксперименты на этом недавно запущенном в эксплуатацию ускорителе.

Надо заметить, что постановка радиобиологических экспериментов на ускорителе У-300 была не простой задачей. Энергия тяжелых ионов, генерируемых ускорителем, не превышала 10 МэВ/нуклон. Для проведения радиобиологических экспериментов была создана установка, которая позволяла транспортировать пучки ускоренных ядер в атмосферу. С её помощью можно было осуществлять прецизионную дозиметрию частиц и с учетом того, что пробеги ускоренных ионов в тканях живых организмов не превышали 300 мкм, пришлось разработать специальную технику приготовления биологических образцов (монослой клеток) для облучения. В экспериментах на микроорганизмах, клетках млекопитающих в культуре, тканях роговицы мелких лабораторных животных была отмечена высокая биологическая эффективность тяжелых ионов по сравнению с гамма-лучами и протонами высоких энергий по многим тестам, в том числе по критерию индукции повреждений хромосомного аппарата клеток млекопитающих.

Помимо специалистов в области космической радиобиологии на базе ОИЯИ работала группа радиобиологов - сотрудников Всесоюзного Онкологического Научного Центра (ВОНЦ) АМН СССР. В 1966г. по инициативе В.П.Джелепова на синхроциклотроне ЛЯП ОИЯИ были начаты работы по созданию первого в СССР протонного медицинского пучка для облучения онкологических больных. Группу физиков, занимавшихся этой проблемой, возглавлял сотрудник ЛЯП О.В. Савченко, от онкологического центра работой руководил заведующий отделением лучевой терапии проф. И.И.Рудерман. Вскоре был создан протонный пучок, на котором необходимо было провести первые предклинические радиобиологические исследования. Для этих исследований в ВОНЦ была приглашена на работу из Института гигиены труда и профзаболеваний группа сотрудников, постоянно работающих в Дубне и занимающихся исследованием биологического действия протонов высоких энергий, во главе с С.П. Ярмоненко (тогда еще кандидата биологических наук). В ВОНЦ была создана лаборатория радиобиологии опухолей, сотрудники которой работали в тесном контакте с дубненской группой.

Радиобиологические исследования на протонном медицинском пучке были начаты в 1968 г. В экспериментах, проводимых на клеточных культурах и животных-опухоленосителях, были определены основные радиобиологические параметры протонов с энергией 180 МэВ, что дало возможность в скором времени начать лучевое лечение больных.

Следующим этапом исследований дубненских радиобиологов-онкологов было изучение биологического действия π^- -мезонов на пучке, сформированном на том же ускорителе ЛЯП. Были получены приоритетные данные по величине относительной биологической эффективности и кислородного коэффициента этого вида излучения, которое, как полагали, может оказаться эффективным при использовании в лучевой терапии опухолей. Впоследствии были предприняты исследования биологического действия нейтронов сверхвысоких энергий с дальним прицелом использования этого вида частиц при облучении радиорезистентных крупных опухолевых образований.

Дубненские радиобиологи работали в постоянном контакте с московскими коллегами. Исследованиями по-прежнему руководил теперь уже профессор С.П.Ярмоненко. Совместно с коллегами из Москвы были проведены работы по

экспериментально обоснованию метода гипоксирадииотерапии, который был внедрен в клиническую практику лучевой терапии во многих онкологических учреждениях СССР и за рубежом.

Радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ впоследствии стали успешно развиваться радиобиологами, работающими непосредственно в ОИЯИ, в созданном секторе биологических исследований ЛЯП в 1978 г.

Создание сектора биологических исследований

Инициатором создания сектора биологических исследований являлся доктор физико-математических наук В.И.Данилов - руководитель отдела синхроциклотрона ЛЯП. В этот период В.И.Данилов активно развивал работы по действию магнитных полей с различными характеристиками на биологические объекты. Биологи, организованные в группу магнитных испытаний, работали по специальному наряду-заказу Министерства среднего машиностроения. Проводилось изучение влияния импульсных и переменных магнитных полей на растения, бактерии и фаги, лимфоциты крови человека, нервные клетки (на модели нейронов моллюсков). Наряду с этим изучались реакции растительных объектов на экранирование геомагнитного поля Земли (ГМП). При этом использовалась сконструированная в ОИЯИ установка "Магнитный экран", обеспечивавшая ослабление ГМП в 10^5 - 10^6 раз. Эти работы проводились совместно с сотрудниками Института ботаники имени Н.Г. Холодного АН УССР (г.Киев).

В условиях экранирования ГМП доминирующей реакцией явилась задержка прорастания семян разных видов растений и торможение роста их проростков. Было выявлено снижение пролиферативного пула клеток и увеличение общей длительности цикла их репродукции за счет удлинения отдельных фаз (в основном пресинтетической, а у некоторых растений и постсинтетической). Исследование динамики синтеза РНК и белков, доминирующего именно в этих фазах клеточного цикла, выявило снижение функциональной активности генома у всех исследованных растений в ранний пререпликативный период. Полученные результаты свидетельствовали о том, что ГМП является биологически значимым фактором, оказывающим определенное влияние на процессы транскрипции, трансляции и на пролиферативные процессы в растительной клетке.

Проведенное на клетках человека исследование влияние меняющегося во времени по пилообразному закону магнитного поля (МП) с напряженностью в максимуме 300 Э на хромосомы лимфоцитов крови человека показало, что эффективность воздействия МП существенно зависит от температуры культивирования клеток. При культивировании лимфоцитов в диапазоне температур 37 - 41,5 С было отмечено увеличение числа клеток с хромосомными абберациями с ростом температур от 38,5 С и выше, особенно в случаях совместного воздействия магнитного поля и высоких температур.

С учетом полученных результатов, и в целях координации работ в области биологии и медицины, а также развития новых направлений в отделе синхроциклотрона ЛЯП был создан сектор биологических исследований (Приказ по ОИЯИ №3388 от 29 ноября 1977 г.). Для руководства сектором был приглашен профессор В.И.Корогодин, а с 1986 г. сектор возглавил профессор Е.А.Красавин.

Наряду с исследованиями в области магнитобиологии в секторе начали активно развиваться радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ. Основной задачей этих исследований являлось выяснение механизмов, определяющих различия в

биологической эффективности ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками. На протяжении нескольких десятилетий одной из ключевых в радиационной биологии являлась проблема ОБЭ ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками. Несмотря на интенсивные исследования проблемы ОБЭ излучений различающихся по линейной передаче энергии (ЛПЭ), проводимые во многих лабораториях мира, механизмы, определяющие эти различия, не были выяснены. Для объяснения закономерностей летального действия излучений, различающихся по ЛПЭ, на клетки различного происхождения были созданы многочисленные математические модели. Однако в рамках развитых представлений оказалось невозможным объяснить неоднозначную зависимость ОБЭ от ЛПЭ. Главная трудность, которая препятствовала раскрытию природы ОБЭ, заключалась в том, что ОБЭ неоднозначно определяется как чисто физическими факторами, отражающими особенности передачи энергии веществу клеток, так и различными факторами биологической природы. Несмотря на то, что двойная природа ОБЭ была понята уже давно и, более того, были проделаны работы, в которых предпринимались попытки разделить физическую и биологическую составляющие в целях получения соответствующих формул для вычисления коэффициентов ОБЭ, механизмы, определяющие различия в ОБЭ ионизирующих излучений разного качества выяснены не были. Причиной этого являлся не учет того важного факта, что биологическая составляющая сама может зависеть от ЛПЭ. На основе этого возникло ложное представление о том, что зависимость ОБЭ от ЛПЭ целиком определяется микроскопическим распределением переданной энергии излучений генетическим структурам, ответственным за реализацию радиационно-индуцированного эффекта.

В экспериментах, выполненных на ускорителях тяжелых ионов, было установлено, что биологическая эффективность ионизирующих излучений разного качества по их летальному действию на клетки про- и эукариот определяется двумя факторами различной природы: физическими характеристиками излучений и биологическими свойствами самих клеток - их способностью восстанавливаться от лучевых повреждений. Главный вывод, сделанный в результате проведенных экспериментальных и теоретических исследований, на основе чего была решена проблема ОБЭ, заключался в том, что способность к репарации повреждений ДНК *зависит от ЛПЭ*, так как *характер летальных повреждений также изменяется и является зависимым от ЛПЭ* [1].

В конце 70-х гг. работами отечественных и зарубежных авторов было установлено, что основными повреждениями и структуры ДНК, приводящими клетки к гибели, являются двунитевые разрывы (ДР). Несколько позднее было также показано, что бактерии - клетки кишечной палочки (*E.coli*), при определенных условиях погибают в результате возникновения по крайней мере одного ДР ДНК в хромосоме. С учетом выявленных фактов выдвинутое положение об изменении характера летальных повреждений с изменением ЛПЭ излучений можно было экспериментально обосновать. Этому способствовало и то обстоятельство, что к тому времени были получены разнообразные репарационно-дефицитные мутанты клеток *E.coli*. Их использование позволяло исследовать влияние различных этапов репарационного процесса на особенности летального действия излучений широкого диапазона ЛПЭ.

На основе известных представлений о закономерностях индукции и репарации первичных повреждений ДНК у бактерий *E.coli* при облучении была разработана математическая модель лучевой инактивации бактерий. С использованием методов микродозиметрии было показано, что при гамма-облучении клеток *E.coli* основной тип

летальных повреждений ДНК - двунитевые разрывы, возникают в процессе репарации однонитевых разрывов (ОР) ДНК и являются энзиматическими ДР ДНК. Выход прямых ДР ДНК, непосредственно индуцируемых гамма-облучением, существенно меньший. С возрастанием ЛПЭ частиц изменяется *качество* ДР ДНК, связанное с увеличением выхода "комплексных" ДР. Комплексные ДР при прохождении тяжелой частицы через нить ДНК характеризуются одновременными разрывами не только главной цепи валентности, но и повреждениями оснований в месте разрыва, повреждениями сахара. Разработанная биофизическая модель объясняет для клеток *E.coli* разных генотипов зависимость от ЛПЭ излучений радиочувствительности, формы кривых выживания, действия разных модифицирующих факторов. Было показано, что при гамма-облучении величина радиочувствительности определяется эффективностью репарационных систем клеток, при действии же тяжелых заряженных частиц радиочувствительность детерминирована лишь физическими свойствами излучений. Характер зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ излучений обуславливается степенью чувствительности *E.coli* к гамма-облучению.

Экспериментальная проверка подтвердила все следствия разработанной модели. Было установлено, что:

характер зависимости радиочувствительности бактерий *E.coli* генетически детерминирован и определяется типом и выходом летальных повреждений, индуцируемых при гамма-облучении; зависимость радиочувствительности клеток с нормальным репарационным генотипом от ЛПЭ может описываться либо кривой с локальным максимумом, либо без максимума, в зависимости от условий, влияющих на выход ДР ДНК энзиматической природы и определяющих чувствительность клеток к гамма-облучению; зависимость радиочувствительности от ЛПЭ мутантов с блоком медленной репарации ДНК имеет ниспадающий характер при всех значениях ЛПЭ, и коэффициенты ОБЭ излучений не превышают 1; для мутанта с эффективно работающей системой репарации характерна зависимость с резко выраженным максимумом; при значениях ЛПЭ ≥ 100 кэВ/мкм имеет место нивелирование радиочувствительности всех клеточных штаммов независимо от репарационного генотипа, обусловленное индукцией прямых комплексных ДР ДНК.

Развитые модельные представления послужили основой для изучения факторов, определяющих форму кривых выживания (*S*) клеток *E.coli* от дозы (*D*) излучений, различающихся по ЛПЭ. Исследования влияния факторов различной природы на форму зависимости *S(D)* у клеток *E.coli* показали, что экспоненциальный тип этой зависимости реализуется в том случае, когда в процессе репарации каждого возникающего повреждения в клетке при облучении остаются не восстановленные повреждения, подчиняющиеся пуассоновскому распределению. Угол наклона экспоненты, отражающий радиочувствительность клеток, соответствует в этом случае выходу не репарируемых повреждений ДНК. Пределы чувствительности клеток к гамма-облучению обусловлены выходом прямых ДР ДНК и размером чувствительной мишени. Нелинейный в полулогарифмическом масштабе характер кривых выживания бактерий *E.coli* может обуславливаться рядом биологических механизмов, реализуемых на популяционном, клеточном и молекулярном уровнях. Наиболее существенными причинами, обуславливающими сигмовидный характер зависимости *S(D)*, являются особенности репликации бактериальной хромосомы, приводящие к многокопийности генома. Наряду с фактором многокопийности в формировании плеча кривой выживания клеток с нормальным репарационным генотипом может принимать участие рекомбинационная

репарация на гомологичных участках ДНК. С возрастанием ЛПЭ сигмоидные при гамма-облучении кривые выживания бактерий *E.coli* претерпевают характерные изменения, заключающиеся в уменьшении величины плеча и изменении угла наклона - возрастании его в области промежуточных значений и постепенном его уменьшении при дальнейшем возрастании ЛПЭ. Изучение природы трансформации сигмоидных кривых в экспоненциальные с увеличением ЛПЭ показало что она обуславливается возрастанием флуктуации энергии тяжелых заряженных частиц по чувствительным микрообъемам клеток. Это приводит к тому, что в результате попадания тяжелой частицы в нуклеоид бактериальной клетки, содержащей несколько копий генома, одновременно инактивируются все чувствительные мишени.

Различная роль физического и биологического факторов в летальном действии излучений, различающихся по ЛПЭ, ярко проявляется в условиях влияния ряда модифицирующих факторов. Прежде всего это касается модифицирующего влияния кислорода, а также влияния радиопротекторов двух различных классов: аминотиолов и многоатомных спиртов. В рамках разработанной биофизической модели был проведен анализ закономерностей реализации кислородного эффекта у бактерий *E.coli* с различным репарационным генотипом, защитного влияния радиопротекторов. Было показано, что многообразие проявлений кислородного эффекта у клеток с различным репарационным генотипом в различных условиях определяется выходом повреждений не модифицируемых кислородом и повреждений не восстанавливаемых *pol A* - зависимой репарацией. Было также продемонстрировано, что при действии на клетки излучений с возрастающими значениями ЛПЭ увеличивается выход таких повреждений, что обуславливает резкое снижение кислородного эффекта при облучении клеток тяжелыми заряженными частицами.

Проведенные исследования радиозащитного действия некоторых радиопротекторов (цистеамин и глицерин) свидетельствуют о том, что их защитное влияние генетически детерминировано: большинство мутаций, приводящих к повышению радиочувствительности клеток, снимает или резко уменьшает защитное влияние аминотиолов. Это связано с тем, что их радиопротекторное действие реализуется не на уровне физико-химических процессов, а на уровне ферментативных процессов репарации. Радиозащитное действие глицерина также генетически детерминировано, однако в отличие от цистеамин эта детерминированность заключается не в уменьшении или исчезновении защитного влияния радиопротекторов, а в повышении эффективности его действия в ряду штаммов *E.coli*: *rec A*-мутант - дикий тип - *pol A*-мутант. Аналогичная по направленности картина установлена и для кислородного эффекта. Исследования с репарационными мутантами подтвердили положение о том, что защитный эффект глицерина - результат физико-химических процессов, обусловленный способностью протектора перехватывать ОН-радикалы и снижать выход повреждений, восстанавливаемых *pol A*-зависимой репарацией. Установленные различия в реакции триады штаммов: *rec A*-мутант - дикий тип - *pol A*-мутант на протекторы, работающими на уровне физико-химических реакций и протекторы, механизм действия которых связан с ферментативными процессами репарации, позволил предложить схему этих опытов для установления механизма действия радиопротекторов различных классов.

Главный вывод, который был сделан на основе исследований с клетками *E.coli*, заключался в том, что величина ОБЭ ионизирующих излучений с разной ЛПЭ определяется не только физическими характеристиками излучений, но и биологическими свойствами самих клеток - их способностью восстанавливаться от лучевых повреждений.

Причем способность к репарации зависит от ЛПЭ, так как характер летальных повреждений также изменяется в зависимости от ЛПЭ.

Поскольку этот вывод был сделан на основе исследований, выполненных на клетках прокариот, представлялось важным решить вопрос, справедлив ли сделанный вывод и для клеток эукариот. В экспериментах на изогенных штаммах гаплоидных дрожжей - клетках дикого типа и радиочувствительном мутанте rad 6 было показано, что характер зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ, так же как и для клеток прокариот, определяется генотипом клеток. В отличие от дикого штамма, у которого эта зависимость описывается кривой с локальным максимумом, для мутанта rad 6 впервые был выявлен ниспадающий тип зависимости. Коэффициенты ОБЭ излучений, различающихся по ЛПЭ, у этого мутанта не превышают 1. Поскольку гаплоидные дрожжи в стационарной фазе не репарируют ДР ДНК и образование одного ДР в геноме таких клеток приводит к летальному событию, повышение чувствительности к g-облучению гаплоидных мутантов rad 6 объясняется нарушением определенных этапов в механизме репарации однонитевых разрывов ДНК. Было показано, что это обстоятельство может приводить к повышению выхода у таких клеток летальных ДР ДНК. Вследствие этого наблюдается трансформация зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ с локальным максимумом в кривую ниспадающего типа. На основании проведенных исследований был сделан вывод о том, что механизмы, определяющие различия в биологической эффективности у бактерий и гаплоидных дрожжей, близки между собой.

Важная роль восстановительных процессов в биологической эффективности излучений разного качества у клеток млекопитающих была выявлена в исследованиях радиочувствительности клеток китайского хомячка при облучении тяжелыми заряженными частицами широкого диапазона ЛПЭ в условиях влияния ингибиторов репаративного синтеза ДНК - арабинозидцитозина и оксимочевины. Механизм сенсibiliзирующего влияния арабинозидцитозина в комбинации с оксимочевинной заключается в подавлении репаративного синтеза коротких брешей в ДНК, что приводит к повышению выхода энзиматических ДР ДНК при гамма-облучении клеток. При использовании излучений широкого диапазона ЛПЭ было установлено, что в условиях влияния этих агентов радиочувствительность клеток возрастает к гамма-облучению, но не к действию тяжелых заряженных частиц. Это обуславливает снижение коэффициентов ОБЭ тяжелых частиц при облучении клеток в присутствии ингибиторов синтеза ДНК. На основании этих исследований было продемонстрировано, что так же как и у клеток прокариот и низших эукариот, у клеток млекопитающих при действии излучений с разной ЛПЭ изменяется спектр летальных повреждений ДНК: образование ДР ДНК кластерного типа, репарация которых клетками либо невозможна, либо крайне затруднена. Анализ полученных экспериментальных данных с позиций представлений, допускающих индукцию при облучении разными типами излучений только один тип ДР ДНК (прямых ДР), показал несоответствие таких модельных представлений и результатов экспериментов.

Проведенные исследования впервые для клеток низших и высших эукариот, так же как и для прокариот продемонстрировали, что не только фактор физической природы - характер энерговыделения ионизирующих излучений в генетических структурах, но и способность к репарации повреждений ДНК определяют различия в биологической эффективности излучений с разной ЛПЭ. С учетом этого был сделан вывод о том, что механизмы, обуславливающие природу ОБЭ у клеток про- и эукариот, в главных чертах близки между собой. Однако, несомненно, что существенно более сложная организация

генома клеток эукариот определяет и более сложные радиобиологические реакции этих клеток в ответ на воздействие излучений с разной ЛПЭ.

Цикл работ по выяснению механизмов, определяющих различия в летальном действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками на клетки с разным уровнем организации генома был удостоен первой Премии ОИЯИ.

На основе полученных материалов об особенностях летального действия излучений разного качества на клетки с различным генотипом были спланированы эксперименты по изучению механизмов мутагенного действия излучений широкого диапазона ЛПЭ. Вопросы мутагенного действия излучений с разной линейной передачей энергии в 80-е годы практически не были изучены. Хотя было известно, что на мутагенез, индуцируемый излучениями с разными физическими характеристиками, влияют факторы физической и биологической природы, закономерности мутационного процесса и относительная роль в нем физического и биологического факторов исследованы не были. Для решения этих вопросов были разработаны математические модели летального и мутагенного действия разных типов излучений на бактерии, предпринято изучение закономерностей и механизмов индукции прямых и обратных мутаций у клеток прокариот. Было установлено, что: дозовая зависимость частоты мутирования клеток при гамма-облучении имеет линейно-квадратичный характер, который не меняется с ростом ЛПЭ; относительная генетическая эффективность излучений возрастает с увеличением ЛПЭ и описывается кривой с локальным максимумом. Положение максимума этой зависимости *сдвинуто в область меньших ЛПЭ* по сравнению с аналогичной зависимостью для летальных эффектов облучения; мутагенез, индуцированный излучениями с разной ЛПЭ, зависит от эффективности систем репарации клеток. Решающая роль в нем принадлежит индуцибельной SOS репарации; повышение генетической эффективности излучений с ростом ЛПЭ обусловлено увеличением выхода повреждений ДНК, репарируемых лишь с участием мутагенной ветви SOS репарации; генные мутации у прокариот при прохождении треков тяжелых заряженных частиц индуцируются областью дельта-электронов; различия в положении максимумов зависимости относительной биологической эффективности от ЛПЭ для мутагенных и летальных эффектов облучения обусловлены разным характером повреждений ДНК. В первом случае ими являются преимущественно поврежденные основания, во втором - двунитевые разрывы; биологическая эффективность излучений с различной ЛПЭ по индукции генных мутаций определяется особенностями микрораспределения энергии в генетических структурах, состоянием генома и эффективностью систем репарации. Влияние биологического фактора на мутагенез является *зависимым от ЛПЭ /2/*.

Цикл исследований механизмов мутагенного действия ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками на клетки с разным уровнем организации генетического аппарата был удостоен первой Премии ОИЯИ.

Становление отдела биофизики ЛЯП

Расширение спектра исследований в области радиобиологии на базовых установках ОИЯИ требовало структурной реорганизации подразделения, осуществляющих эти исследования. И в 1988 г. сектор биологических исследований был преобразован в Отдел биофизики ЛЯП (Приказ по ОИЯИ №248 от 25.03.88 г.). Одним из приоритетных направлений работы отдела биофизики в этот период явилось изучение мутагенного действия излучений на клетки высших эукариотов, в том числе человека. Как было

выяснено, ионизирующая радиация индуцирует наиболее широкий спектр мутационной изменчивости по сравнению с другими мутагенами. Она увеличивает частоту хромосомных aberrаций, генных и геномных мутаций. Наименее изучено мутагенное действие излучений на клетки высших эукариотов, в том числе человека. Хотя, это явление было обнаружено еще в середине 20-х годов XX века, оно еще до сих пор остается слабо изученным. И, прежде всего, это касается мутагенного действия разных видов ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ, в частности, ускоренных тяжелых ионов.

Индукцированный мутагенез представляет реальную опасность для жизни и здоровья человека, поскольку вновь возникающие мутации оказывают не только непосредственное негативное влияние, но влияют и на последующие поколения. Мутагены физической и химической природы индуцируют широкий спектр различных наследуемых повреждений, которые, по общепризнанному мнению, лежат в основе злокачественного перерождения клеток и канцерогенеза, а также возникновения в последующих поколениях наследственных заболеваний. Причем в обоих случаях биологические последствия существенно отдалены по времени от момента непосредственного действия вызывающих их повреждающих агентов.

Задача изучения мутагенного действия ионизирующих излучений, особенно на клетки млекопитающих и человека, весьма сложна и требует широкого использования как уже разработанных методов, так и создания и развития новых подходов для ее решения. К настоящему времени в распоряжении цитогенетиков имеется ряд таких методов и тест-систем (ПЦР, ПКХ, блот-анализ, FISH-техника, ряд методов анализа хромосомных нарушений), позволяющих проводить исследования по выяснению механизмов и основных закономерностей радиационного мутагенеза клеток человека и млекопитающих.

Ускорители ОИЯИ предоставляют уникальные возможности для проведения исследований в этом направлении. На пучках разных видов заряженных частиц широкого спектра энергий и ЛПЭ в отделе биофизики в тот период начали осуществляться эксперименты на культурах клеток млекопитающих и лимфоцитах периферической крови человека. Они позволили установить основные закономерности образования разных видов так называемых нестабильных хромосомных aberrаций (дицентрики и кольца, некоторые виды обменов между хромосомами), выявляемых общепринятым, ставшим классическим метафазным методом анализа хромосом. Количественный анализ дицентриков используется для целей биологической дозиметрии в случаях случайных неконтролируемых облучений человека. Этот метод анализа также рекомендован ВОЗ для оценки состояния окружающей среды. Однако возможность оценки поглощенной дозы при этом ограничивается острым периодом после лучевого воздействия, поскольку хромосомные aberrации приводят к нарушению процессов клеточного деления и быстро элиминируются из популяции облученных клеток.

Долгое время не удавалось обнаруживать так называемые стабильные хромосомные aberrации (такие, как транслокации), которые способны длительно сохраняться в популяции облученных клеток, перенося искаженную генетическую информацию от одного поколения клеток к другому. Только разработанный в последние 10-15 лет метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH-техника) позволил выявлять такие стабильные aberrации при использовании ДНК-проб, специфичных для отдельных хромосом генома человека. Проведенные эксперименты на ускорителях протонов и тяжелых ионов с использованием этого метода позволили количественно

проанализировать частоту образования транслокаций некоторых хромосом в зависимости от дозы и величины ЛПЭ излучений (протоны, ионы азота, гамма-лучи). В настоящее время с образованием стабильных aberrаций хромосом связывают инициацию ряда онкологических заболеваний, как например хроническая и острая миелоидные лейкемии. Количественный учет стабильных хромосомных aberrаций в клетках организма может рассматриваться и как один из надежных методов ретроспективной биологической дозиметрии при случайных неконтролируемых облучениях организма /3/.

В отделе биофизики были проведены сравнительные исследования закономерностей индукции мутаций одного из генов (HPRT) в клетках млекопитающих в зависимости от величины иницирующей дозы излучений, в том числе тяжелых ионов, в широком диапазоне значений их ЛПЭ. Облучение клеток тяжелыми ионами и гамма-квантами выявило высокое мутагенное действие этих видов излучений на клетки млекопитающих. Полученные данные по выживаемости клеток китайского хомячка и частоте мутаций, индуцированных гамма-квантами и ускоренными ионами ^4He и ^{12}C с разной величиной ЛПЭ, свидетельствовали о неоднозначном характере зависимостей индукции мутаций от дозы и ЛПЭ излучений: при гамма-облучении кривая доза-эффект по критерию индукции мутаций имеет ярко выраженный нелинейный (степенной) характер. Нелинейность кривых наблюдается также при воздействии тяжелых ионов с величинами ЛПЭ 20 и 50 кэВ/мкм. При более высоких значениях ЛПЭ излучений кривые индукции мутаций в зависимости от дозы модифицируются в линейные. Соответственно, кривые выживаемости являются сигмоидными и модифицируются в экспоненциальные. Результаты этих экспериментов показали, что как по выживаемости клеток так и по мутагенному эффекту (хромосомным aberrациям и генным мутациям) максимальная биологическая эффективность имеет место при ЛПЭ излучения порядка 100 кэВ/мкм, причем по мутагенному действию ОБЭ в два раза выше, чем по выживаемости /4/.

В этот период был выполнен большой объем радиобиологических предклинических исследований на медицинских пучках синхроциклотрона ЛЯП. Для этих целей необходимо было оценить биологическое действие заряженных частиц на нормальные и опухолевые клетки млекопитающих. Такого рода исследования можно было провести на животных с перевиваемыми опухолями. Существует большое количество различных линий опухолей, которые можно прививать экспериментальным животным и изучать их реакцию на облучение, при этом оценивать степень повреждения нормальных тканей, например костного мозга, являющегося критической радиочувствительной системой при лучевой терапии. И такого рода эксперименты были осуществлены в первую очередь. Однако дать точную количественную оценку основных параметров биологического действия частиц - относительной биологической эффективности и коэффициента кислородного усиления (ККУ) в экспериментах *in vivo*, на целостном организме оказалось невозможно - сильно сказывалась индивидуальная радиочувствительность клеток и влияние организма в целом на реакцию опухоли. В связи с этим встала задача изучения основных биологических параметров медицинских пучков на клетках изолированных из организма и растущих *in vitro* на искусственных питательных средах - то есть на культуре клеток. Эта работа требовала сооружения специальных помещений, боксов, обеспечивающих стерильность, так как возможность бактериального заражения клеток очень велика.

В качестве основных количественных показателей при оценке биологического действия излучения использовали клоногенную способность клеток и повреждение хромосомного аппарата. ОБЭ протонов и пи-минус мезонов в пике Брега и на входе

пучка оценивали по сравнению с действием стандартных, широко применяемых в лучевой терапии гамма- и рентгеновского излучения.

Одной из главных проблем при проведении лучевого лечения является преодоление радиорезистентности гипоксических клеток, которые, как правило, присутствуют в опухоли из-за слабого развития сосудистой сети новообразований. При действии редкоизионизирующих излучений, гамма- и рентгеновских лучей, протонов, различие в радиочувствительности оксигенированных и аноксических клеток весьма велико и ККУ составляет 3. При действии излучений с высокой ЛПЭ величина ККУ снижается. В литературе к тому времени отсутствовали данные о ККУ для пи- минус-мезонов. Надо заметить, что определение этой очень важной для лучевой терапии величины требует значительных технических ухищрений. Необходимо сравнить радиочувствительность оксигенированных и аноксических клеток, в которых содержание кислорода не должно превысить 20-30 частей на миллион. Для этого была сконструированная специальная аппаратура для откачивания газовой смеси из сосудов, содержащих клеточные суспензии, и последующего заполнения их азотом. И хотя эта процедура осуществлялась многократно получить ККУ=3 при гамма- облучении не удавалось. Только заменив применяемый нами «сверхчистый» азот на аргон и усилив метаболическое потребление кислорода из среды путем создания высокой концентрации клеток удалось достигнуть нужной величины - 3 для гамма-излучения и определить ККУ для Пи-минус-мезонов – ККУ для этих частиц оказался равным 1,7. Эти работы были выполнены впервые в мире и в последующем наши данные были подтверждены американскими исследователями.

Параллельно с этими исследованиями интенсивно велись работы по использованию искусственной гипергликемии (ГГ) для повышения эффективности лучевой терапии опухолей. Известно, что метаболизм опухолевых клеток отличается от нормальных повышенной способностью к гликолизу, продуктом которого является молочная кислота, накопление которой приводит к самозакислению опухолей. В исследованиях на животных с привитыми опухолями и на больных с запущенными формами рака немецким исследователем Фон Арденне и сотрудниками Белорусского онкологического института было показано, что в условиях искусственного повышения содержания сахара в крови значительно возрастает эффективность лучевого лечения. Общепринято было считать, что это связано с подавлением пострадиационного восстановления в условиях сниженного рН. Однако серьезная экспериментальная база, необходимая для клинического применения метода и стабильного воспроизведения результатов, отсутствовала. Целью проводимых исследований в отделе биофизики являлось изучение клеточных механизмов ГГ. Эксперименты проводили в системе *in vitro* на опухолевых клетках, взятых у животных непосредственно перед опытом. Это позволяло, создавая дозированную глюкозную нагрузку и меняя уровень оксигенации, контролировать степень закисления и выживаемость опухолевых клеток. В ходе экспериментов были получены весьма неординарные результаты. Было показано, что при достижении определенной степени закисления, имеющей место в условиях гипоксии, опухолевые клетки подвергаются массовой гибели без всякого дополнительного воздействия, в частности облучения. Наши количественные оценки свидетельствовали о том, что имеет место аддитивность (суммация) двух воздействий: гипоксические клетки погибают в результате самозакисления, хорошо оксигенированные, слабо гликолизирующие - в результате воздействия излучения. Влияние ГГ на пострадиационное восстановление не было обнаружено. Полученные нами результаты были подтверждены в ряде специализированных онкологических лабораторий.

Применение сосудосуживающих препаратов, дополнительно повышающих гипоксию в опухолях и усиливающее гликолиз, двукратно повышало эффективность лечения. К сожалению, эти исследования не получили дальнейшего развития, так как в результате событий начала девяностых годов распались научные коллективы, занимающиеся этими проблемами.

Наряду с радиобиологическими исследованиями на клетках высших организмов в отделе биофизики проводились многоплановые работы с клетками низших эукариотов – клетках дрожжей. Этот организм, относящийся к грибам, является одним из излюбленных объектов изучения живых систем. На протяжении всей истории человек сталкивался с негативным действием разнообразных болезнетворных организмов, однако именно дрожжи были, по-видимому, первыми микроорганизмами, которые человек стал использовать для удовлетворения своих потребностей.

Хорошо известно, что одним из важных факторов, определяющих особенности реакции дрожжевых клеток на облучение, является их плоидность. Диплоидные клетки отличаются от гаплоидных величиной радиочувствительности, формой кривой выживания, ОБЭ, проявлением мутаций, повышающих чувствительность к ионизирующим излучениям. Попытки интерпритации этих закономерностей привели к предположению о существовании у диплоидных клеток так называемой диплоидспецифической репарации повреждений. Эта проблема имеет важный общебиологический аспект. Переход от гаплоидных организмов к диплоидным в процессе эволюции привел к существенному повышению надежности генетического аппарата к различным повреждающим воздействиям внешней среды.

В отделе биофизики были проведены исследования по изучению роли факторов, обусловленных диплоидным состоянием генома, в чувствительности дрожжевых клеток к разным генотипом к действию ионизирующих излучений, различающихся по ЛПЭ. Было показано, что закономерности летального действия ионизирующих излучений разного качества на диплоидные клетки дрожжей обусловлены, по крайней мере, двумя диплоидспецифическими процессами: репарацией повреждений, лежащей в основе пострadiационного восстановления клеток, и процессами, определяющими «эффект дорастания». Проведенные исследования позволили сделать вывод о взаимной независимости процессов репарации и реализации радиационных повреждений. Впервые осуществлена оценка роли диплоидспецифической репарации в радиочувствительности клеток при действии излучений с высокой ЛПЭ и изучена зависимость эффективности репарационных процессов от качества излучения. Показано, что сигмоидная форма кривой выживания диплоидных клеток при действии излучений с высокой ЛПЭ обусловлена исключительно «эффектом дорастания».

В дальнейшем были продолжены работы по изучению мутагенного эффекта ионизирующей радиации на клетках дрожжей. Проблема состояла в том, что определить природу мутационного повреждения довольно трудно. В процессе работы удалось подобрать такие генетические системы, которые позволяли определить точную природу мутационного события без использования дорогостоящих и трудоемких методик.

В качестве модельной системы для изучения тотального мутагенеза использовали ген *CAN1*, кодирующий аргининпермиазу и имеющий протяженность 1.8 тысяч пар оснований. Мутации любой природы приводят к нарушению функции гена и возникновению резистентности к антибиотику.

Для тестирования крупных перестроек использовали две тест системы, позволяющие определять митотический кроссинговер и конверсию. Митотическую рекомбинацию, как известно, индуцируют двунитевые разрывы. В результате рекомбинации образуются протяженные изменения генетического материала.

Для анализа микроделеций использовали возникновение реверсий у штаммов, имеющих мутации сдвига рамки считывания. Использованный в работе штамм несет вставку 4 основания в гене *LYS2* и вставку +1Т в последовательность 6Т в гене *НОМ3*. Реверсии к фенотипу дикого типа Lys^+ и $Ном^+$, по преимуществу, представляют собой выпадение одного нуклеотида.

Для оценки индукции точковых мутаций замен пар нуклеотидов использовали тестерную систему, разработанную проф. Хэмпси (Университет Луизианы). В этой системе используется то обстоятельство, что положение 22 цистеина в белке изоцитохром-с является критическим. Сконстрированы 6 штаммов, имеющих в этом положении замены пар оснований, что приводит к инактивации фермента и неспособности роста на среде с несбраживаемым источником углерода. Восстановление функциональной активности возможно только за счет истинных реверсий, восстанавливающих кодон цистеина в положении 22. Реверсии в *СУС1* гене каждого из 6 штаммов представляют собой 1 из 6 возможных замен пар оснований. Таким образом, была получена простая и надежная система, позволяющая определять происходящие в клетке изменения нуклеотидной последовательности ДНК без использования сложных молекулярных и генетических методик.

В экспериментах с данной системой наиболее подробно изучен спектр мутаций под действием γ -облучения. Ионизирующей радиацией наиболее эффективно индуцируются крупные перестройки, частота которых характеризуется величинами порядка одного процента. Кривая индукции рекомбинационных событий выходит на плато. Из непротяженных мутационных событий наиболее эффективно, естественно, индуцируются мутации в гене *CAN1*, что отражает суммарный характер мутаций. Получена линейная кривая зависимости образования прямых мутаций в гене *CAN1* от дозы при γ -облучении. Показано, что γ -лучи эффективно индуцируют мутации сдвига рамки считывания. Для сравнения приведены частоты индуцированного мутагенеза: частота прямых мутаций резистентности к канаванину (CAN^r) составляет 5.8×10^{-5} ; мутации сдвига рамки считывания для реверсий к Lys^+ - 1×10^{-6} и реверсий к $Ном^+$ - 1.6×10^{-7} при дозе облучения 100 Гр. В пределах изученных доз (100 – 1000 Гр) зависимость частоты мутаций сдвига рамки считывания от дозы носит линейный характер. Однако анализ индукции точечных мутаций выявил линейный характер кривых для гаплоидов и линейно-квадратичный характер кривых для диплоидных штаммов. Анализ спектра мутаций показал, что спектр мутаций, индуцированных γ -излучением, отличается от спектра спонтанных мутаций повышенной долей трансверсий АТ-ТА. Спектр замен пар оснований совпадает у гаплоидных и диплоидных штаммов дрожжей. Максимальный вклад (более 30%) приходится на долю транзиций GC-AT. Спектр индуцированных мутаций не зависит от дозы облучения.

Другим направлением исследований являлось изучение механизмов репарации двунитевых повреждений, индуцированных радиацией. Было выяснено, что у дрожжевых клеток существует не только медленный тип репарации двунитевых разрывов ДНК, но также и быстрый тип репарации таких повреждений. При этом было показано, что и медленный тип репарации двунитевых разрывов, и быстрый тип репарации таких

повреждений эффективно осуществляется только у диплоидных дрожжевых клеток.

Третьим направлением исследований являлось изучение закономерностей спонтанного мутагенеза. Для исследований были выбраны гены, контролирующие синтез аденина и лейцина. Исходные штаммы ауксотрофны и не способны расти на среде без добавки соответствующего продукта. Реверсии к прототрофности могут происходить двумя путями: путем образования обратных мутаций в гене, контролирующем его синтез, и путем прямых мутаций в генах-супрессорах. В специальных опытах было установлено, что в условиях, при которых активность гена подавлена, этот ген образует мутации с частотами, на два порядка меньшими, чем в условиях, когда он активно работает. В то же время гены-супрессоры, активность работы которых не зависит от наличия в среде аденина, в обоих случаях мутируют примерно с одинаковыми частотами.

Таким образом, в отделе биофизики были проведены многоплановые радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ. После успешного проведения работ по ускорению тяжелых ядер до релятивистских энергий на синхрофазотроне ЛВЭ и начала физических экспериментов на новом ускорителе этой Лаборатории были спланированы радиобиологические эксперименты на пучках высокоэнергетичных тяжелых ионов. Проведение таких работ требовало специальных спектрометрических и дозиметрических исследований пучков релятивистских тяжелых ядер. Большим опытом в данной области обладали сотрудники Отдела радиационных исследований и радиационной безопасности ОИЯИ. Дирекция ОИЯИ – В.Г.Кадышевский и А.Н.Сисакян поддержали инициативу объединения отдела биофизики ЛЯП и Отдела радиационных исследований и радиационной безопасности ОИЯИ в новое структурное подразделение Института – Отделение радиационных и радиобиологических исследований (Приказ №270 от 27.04.95 г.)

Отделение радиационных и радиобиологических исследований ОИЯИ

Основными задачами созданного Отделения РРИ являлось проведение радиационных и радиобиологических исследований в следующих главных направлениях:

проведение исследований взаимодействия излучений с веществом и разработка методов радиационного мониторинга; изучение генетического действия ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками; исследование радиационной обстановки в подразделениях Института с целью контроля за обеспечением радиационно-безопасных условий труда в ОИЯИ в соответствии с нормами и правилами работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений, действующими в стране местонахождения Института; разработка и участие в создании систем радиационного контроля на вновь создаваемых и реконструируемых (модернизируемых) ядерно- и радиационно опасных установках и участках ОИЯИ.

Для реализации основных задач ОРРИ выполняло функции по созданию необходимой аппаратуры для радиационных и радиобиологических исследований, радиационному мониторингу, проведению экспериментов, обработке экспериментальных данных, теоретическим разработкам в области моделирования взаимодействия излучений с веществом.

В области радиобиологии были продолжены ранее начатые исследования мутагенного действия излучений широкого диапазона ЛПЭ. В экспериментах на бактериальных клетках были изучены закономерности и механизмы индукции структурных (делеционных) мутаций. Эта задача является весьма актуальной, поскольку

при решении вопросов нормирования лучевых нагрузок от излучений разного качества на персонал, работающий в смешанных полях ионизирующих излучений, решения проблемы обеспечения радиационной безопасности экипажей при длительных космических полетах, других важных практических вопросов весьма важно иметь информацию не только о суммарном выходе различного рода мутаций в облученных клетках, но исключительный интерес представляют сравнительные данные о частоте образования как генных, так и структурных мутаций. Исследование дозовых зависимостей выхода точковых и хромосомных мутаций при действии ионизирующих излучений в широком диапазоне ЛПЭ у клеток высших эукариот является весьма сложной проблемой, требующей привлечения сложных молекулярно-биологических методов, выполнения большого объема работ. Получение такого рода информации значительно облегчается в экспериментах на клетках прокариот. При использовании ускоренных тяжелых ионов было показано, что частота образования делеционных мутаций линейно возрастает с дозой всех видов излучений, и наибольшей эффективностью по частоте индукции делеционных мутаций обладают ионы с ЛПЭ, равными 60-80 кэВ/мкм. Это обстоятельство свидетельствовало о разном характере повреждений ДНК, лежащих в основе возникновения генных и делеционных мутаций. В первом случае ими являются кластерные повреждения одной нити ДНК, во втором – двунитевые разрывы ДНК /5/.

В экспериментах на дрожжевых клетках были исследованы механизмы адаптивного и индуцированного мутагенеза. В течение ряда лет в литературе шли активные дебаты по поводу природы адаптивных мутаций у микроорганизмов. Первоначально адаптивные мутации (направленные мутации) определили как мутации, возникающие только в присутствии селективного давления или в медленно растущих клетках в стационарной фазе. Однако на клетках бактерий *Escherichia coli* было показано, что и неселективные мутации также могут возникать с неожиданно высокой скоростью. Позднее было показано, что голодание вызывает повышение частоты как селективных, так и неселективных маркеров. Согласно развитым в ОРПИ представлениям так называемые адаптивные мутации не являются адаптивными, а возникают в результате переходного гипермутабельного состояния клеток в условиях стресса: мутации, имеющие преимущество, немедленно отбираются, а другие мутанты быстро гибнут. В Отделении совместно со специалистами Университета в Перуджии (Италия) продолжаются работы по изучению генетического контроля мутагенеза в условиях голодания, на которые дрожжевые клетки отвечают остановкой деления и вступлением в стационарную фазу роста. Эти исследования тесно связаны с изучением генетического контроля остановки клеточного цикла при получении повреждений ДНК. В последние годы становится более очевидной взаимосвязь различных компонентов интегрального клеточного ответа на повреждения ДНК, обеспечивающего стабильность и целостность генома. Показана связь механизмов контроля клеточного цикла и механизма репарации повреждений ДНК. Этот механизм (checkpoint контроль) позволяет клеткам выживать и поддерживать генетическую стабильность и регулируется checkpoint генами /6/. Считается, что нарушение checkpoint путей, приводящее к увеличению мутабельности и геномной нестабильности, имеет важное значение на ранних стадиях карциногенеза.

К настоящему моменту исследования в многочисленных лабораториях привели к пониманию молекулярных механизмов checkpoint контроля в ответ на повреждения ДНК. Предполагается, что гены RAD9, RAD17 и RAD24 принимают участие на первых этапах узнавания повреждения ДНК. Белковый комплекс RFC-Rad24, по-видимому, осуществляет загрузку белкового комплекса Rad17-Mec3-Ddc1 или

репарационных ферментов на место повреждения ДНК. Киназы, в частности RAD53, участвуют в передаче сигнала, а киназа CDC28 функционирует на завершающих этапах регуляции остановки клеточного цикла, необходимой для осуществления репарации повреждений. Предполагается, что нарушение остановки клеточного цикла приводит к повышению чувствительности к повреждающим агентам и генетической нестабильности. Действительно, повышение чувствительности обнаружено у большинства мутантов с дефектной регуляцией остановки клеточного цикла. Однако, возможно, это повышение чувствительности к повреждающим агентам связано не только с отсутствием остановки клеточного цикла при получении повреждения, но и с участием некоторых checkpoint генов в процессе репарации. Разветвленная схема генетического контроля регуляции прохождения и остановки клеточного цикла нуждается в интенсивных исследованиях. В ОРПИ совместно с Институтом молекулярной генетики РАН, (Москва) проводятся исследования генетического контроля checkpoint путей и их влияния на чувствительность клеток к повреждающему действию радиации [7]. Анализ взаимодействия генов *RAD9*, *RAD17*, *RAD24*, *RAD53* и *CDC28* показал, что гены *RAD9*, *RAD17* и *RAD24* относятся к одной ветви пути, определяющей чувствительность к γ -излучению, хотя гены *RAD9* и *RAD24* относятся к различным ветвям, определяющим чувствительность к УФ-лучам и MMS, и регуляции остановки клеточного цикла. Протеинкиназы *RAD53* и *CDC28* эпистатичны по отношению к гену *RAD9*, но скорее всего относятся к различным ветвям определяющим радиочувствительность. По литературным данным гены *CDC28* и *RAD53* относятся к одной ветви, определяющей остановку клеточного цикла. Полученные данные указывают на несовпадение путей регуляции остановки клеточного цикла и радиочувствительности. Эти данные показывают, что гены многофункциональны и их участие в интегральном ответе не сводится к остановке клеточного цикла, некоторые из них принимают участие и в репарационных процессах.

Важным направлением работ в группе генетики дрожжевых клеток является исследование генетического контроля стабильности геномов, хромосомного и митохондриального. Надо заметить, что дрожжи-сахаромицеты особенно удобны для исследований в области стабильности генома. Так как у них наиболее изучен митохондриальный геном и клетки способны пережить его нарушение и даже элиминацию. Кроме того дрожжи толерантны к наличию лишних хромосом. Были выделены и охарактеризованы мутации *srm*, приводящие к дестабилизации ядерного генома и стабилизации митохондриального. Часть мутаций была картирована. Было показано, что мутации локализованы в генах, играющих ключевую роль в жизнедеятельности клетки. Важная роль принадлежит центральной протеинкиназе CDC28, регулирующей прохождение клеточного цикла, а также фактору транскрипции и белку, локализованному в ядрышке. Следует заметить, что впервые были получены мутации, стабилизирующие митохондриальный геном и снижающие частоту возникновения мутаций дыхательной недостаточности. Природа этого явления до сих пор не ясна и представляет большой интерес.

Широкомасштабные цитогенетические исследования после создания ОРПИ были начаты на клетках млекопитающих и человека. Мутагенное действие излучений с высокой ЛПЭ на клетки высших эукариот, как уже отмечалось, изучено весьма слабо. Основными направлениями исследований в этой области, которые были сформулированы специалистами Отделения, являлось продолжение изучения закономерностей индукции мутации в HPRT- гене клеток млекопитающих при действии ускоренных тяжелых ионов, исследование цитогенетических характеристик HPRT - мутантных субклонов,

выращенных из одиночных клеток, сохраняющих возникшие в них HPRT- мутации в последующих поколениях, изучение хромосомных нарушений (нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций) в лимфоцитах человека при действии тяжелых заряженных частиц, исследование цитогенетических эффектов малых доз облучения.

Облучение клеток тяжелыми ионами и γ -квантами и тяжелыми ионами выявило высокое мутагенное действие этих видов излучений на клетки млекопитающих /4/. Величина ОБЭ для исследованных тяжелых ионов по отношению к действию γ -квантов описывается кривой с локальным максимумом при ЛПЭ $\sim 80-100$ кэВ/мкм. Было сделано интересное наблюдение которое касается области ЛПЭ излучений около 20 кэВ/мкм, где наблюдался некоторый сдвиг кривой по выходу мутаций к несколько повышенным значениям ОБЭ по сравнению с тестами инактивации клеток и образования хромосомных aberrаций. Ранее в исследованиях на бактериях было продемонстрировано, что максимум зависимости ОБЭ от ЛПЭ излучений по мутагенному эффекту, был существенно сдвинут в область меньших значений ЛПЭ и соответствовал ~ 20 кэВ/мкм, в то время как максимальные значения ОБЭ тяжелых ионов по летальному действию наблюдались при 80-90 кэВ/мкм. Это обстоятельство определялось разным характером молекулярных повреждений, лежащих в основе индуцируемых мутаций и леталей: мутации у бактерий являются в подавляющем большинстве генными и связаны главным образом с повреждениями оснований, летальный же эффект определяется индукцией двунитевых разрывов (ДР) ДНК. Полученный в исследованиях на клетках млекопитающих аналогичный характер зависимостей ОБЭ от ЛПЭ излучений по тестам индукции мутаций, хромосомных aberrаций и инактивации клеток может указывать на то, что в основе повреждений, приводящих к таким эффектам в клетках млекопитающих, лежат одни и те же события - ДР ДНК. Сдвиг кривой зависимости ОБЭ от ЛПЭ излучений в области значений ЛПЭ ~ 20 кэВ/мкм по индукции мутаций в клетках млекопитающих по сравнению с летальным эффектом определяется повышением вклада точковых мутаций, а при более высоких ЛПЭ излучений превалируют мутации генов, связанные с возникновением разных типов делений. Аналогичный характер кривых зависимостей ОБЭ от ЛПЭ по этим трем тестам может служить свидетельством того, что в основе этих эффектов в клетках млекопитающих лежат одни и те же повреждения, а именно ДР ДНК. Ими обуславливается возникновение в клетках хромосомных aberrаций и таких мутаций, как макро и микроделеции генов в ДНК.

В предположении, что мутационный процесс в клетках млекопитающих может сопровождаться нарушением структурной целостности хромосомного аппарата и проявиться в хромосомной нестабильности клеток, были предприняты исследования по выделению одиночных мутантных колоний, из которых были выращены субклоны и проведен их цитогенетический анализ. При цитогенетическом анализе наблюдалась гетерогенность спонтанных и радиационно-индуцированных HPRT-мутантных субклонов по исследованным цитогенетическим показателям (митотической активности, анеуплоидии, уровню хромосомных aberrаций). Как показали исследования, последствия мутационных событий проявились в возникновении геномной (по числу хромосом в клетках) и хромосомной (по уровню aberrаций хромосом) нестабильности в популяциях потомков мутантных клеток.

При выявлении и селекции мутантных субклонов было отмечено появление мутантов с замедленным ростом по сравнению с интактным контролем. Замедление роста многих мутантных субклонов в селективной среде могло определяться возникновением мутаций гена, приводящих к снижению активности фермента или синтезу меньшего

количества нативного фермента. В этих случаях жизнеспособность мутантной популяции могла обеспечиваться только за счет клеток, не успевающих в течение клеточного цикла утилизировать пуриновый аналог.

Критериями оценки мутантных субклонов по числу хромосом в клетках являлись модальное число хромосом и процентное содержание клеток с такой модой. Анализ спектров хромосом выявил выраженную анеуплоидию вплоть до полной пloidии. Среди субклонов преобладали образцы с модальным числом, равным 21-ой или 22-м хромосомам. Доля диплоидных мутантов с модальным числом хромосом составляла, как правило, 70% и более, доходя до 100%. Доля клеток с такой модой в образцах существенно варьировала. Для спонтанных мутантов она находилась в пределах 50-80% и практически не отличалась от контроля. Радиационно-индуцированные мутанты были особенно гетерогенными по спектрам хромосом.

Для объяснения явления хромосомной нестабильности была выдвинута «метаболическая гипотеза». Как известно, у клетки есть два пути синтеза пуриновых нуклеотидов: синтез *de novo* (строится поэтапно на рибозо-5'-фосфате) и синтез из готовых продуктов. Второй путь для клетки энергетически более выгоден. Он осуществляется при синтезе нативного hprt-фермента. При мутациях в HPRT-локусе, сопровождающихся прекращением синтеза фермента, образование пуриновых нуклеотидов должно идти по пути *de novo*. В случае синтеза фермента со сниженной активностью или при синтезе недостаточного количества нативного фермента в клетке появляются условия для конкуренции обоих путей. Возникает ситуация, приводящая к нарушению равновесия в метаболизме клетки, когда клетка включает необходимую машинерию для синтеза ДНК с участием hprt-фермента, но он недостаточно функционален и не успевает поставлять необходимые нуклеотиды. Это приводит к метаболическому дисбалансу, что служит сигналом для включения механизмов поиска равновесия, и в результате нехватки пуриновых оснований при застройке цепей ДНК включается путь синтеза *de novo*. Вероятно, такое неустойчивое состояние может сопровождаться хромосомной нестабильностью как этапом в поиске равновесия и адаптации к изменившимся условиям существования. В итоге будут формироваться мутантные субклоны с повышенным по сравнению с контролем выходом хромосомных aberrаций. Из этого следует, что для выживания мутантных клеток более благоприятным будет полное прекращение синтеза фермента (в случае полной или крупной делеции гена), чем синтез фермента со сниженной активностью. В то же время появление и сохранение мутантных клеток в организме приводит к развитию патологических процессов. В настоящее время структурные хромосомные аномалии, затрагивающие определенные гены, привлекают повышенное внимание исследователей, поскольку становится все более очевидной их роль в патогенезе ряда опухолевых заболеваний у человека, в частности в развитии лейкозиев. С точки зрения метаболической гипотезы становится понятным 'механизм нестабильности хромосом у потомков мутантных клеток. Мутации передаются из поколения в поколение и, тем самым, снимается вопрос о консервации иницирующего события в последующих поколениях мутантных клеток.

Большой объем работ был выполнен по изучению закономерностей индукции разными типами излучений нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций в клетках человека. К нестабильным aberrациям относятся разного вида хроматидные и хромосомные обмены, приводящие к появлению несвойственных для клеточной популяции измененных хромосом, таких как дицентрики, полицентрики, кольца, а также разного рода фрагменты хромосом. Их появление сопровождается нарушением процессов

деления клеток и, как правило, их быстрой гибелью. Нестабильные хромосомные aberrации анализируют с помощью общепринятого стандартного метафазного метода, позволяющего выявлять их во всем геноме клеток при микрокопировании лимфоцитов с использованием обычных световых микроскопов. Как видно на рис.ба, при воздействии всеми исследованными видами излучений имеет место линейная зависимость частоты образования клеток с хромосомными aberrациями от дозы облучения. Для общего числа хромосомных aberrаций была выявлена степенная зависимость эффекта от дозы редкоизирующих излучений (протоны и γ -кванты). Она модифицируется в линейную при воздействии тяжелых ионов. Однако наблюдается снижение эффектов при воздействии высоких доз таких излучений, что является следствием существенной задержки митозов, особенно тяжело поврежденных клеток с множественными aberrациями хромосом.

Стабильные хромосомные aberrации образуются в результате симметричного обмена участками между двумя поврежденными хромосомами, не приводящего к нарушению поведения хромосом в процессе клеточного деления. При последующих делениях клеток такие хромосомы ведут себя как нормальные и передаются последующим поколениям клеток, неся искаженную генетическую информацию. Такие стабильные хромосомные aberrации, как транслокации и инсерции (вставки в хромосому участка другой хромосомы), длительно сохраняются в клетках последующих поколений. Общеизвестно, что такие хромосомные перестройки со временем могут привести к развитию в организме человека мутагенных процессов и канцерогенезу. Возможность выявления стабильных хромосомных aberrаций появилась, с разработкой в последнее десятилетие так называемой FISH-техники - флуоресцентной гибридизации *in situ*. При этом с помощью люминесцентных микроскопов в геноме клеток обнаруживают стабильные aberrации отдельных хромосом, помеченных флуоресцентными красителями, при использовании специфичных для них проб, содержащих уникальные последовательности ДНК.

В исследованиях, проведенных в ОРПИ были использованы ДНК-пробы, специфичные для хромосом -1 и 2 генома лимфоцитов человека. Эти хромосомы являются наиболее крупными в геноме человека и их повреждения могут происходить с большей вероятностью при воздействии такого неблагоприятного фактора, как ионизирующие излучения. С помощью FISH-анализа нами выявлена высокая частота образования таких стабильных aberrаций этих хромосом, как транслокации. Коэффициенты ОБЭ излучений с ЛПЭ, равными 80 кэВ/мкм, достигали значения 3 и более.

Обширные исследования на клетках млекопитающих были проведены по определению цитогенетических эффектов малых доз облучения /8/. Как известно, оценка биологического действия малых доз ионизирующего излучения является необходимым условием для прогнозирования генетического и канцерогенного риска облучения. Трудности оценки эффектов и установление формы кривой доза-эффект в области малых доз связаны со сложностью получения статистически достоверных данных при низких уровнях повреждений, вызываемых этими дозами. Вследствие этого, оценка риска при действии малых доз осуществляется на основе экстраполяции эффектов высоких доз на область низких доз и результаты оценки зависят от модели, положенной в основу экстраполяции. Беспороговая линейная концепция, как наиболее "осторожная", предполагающая опасность любого, даже самого малого превышения естественного радиационного фона, является официально признанной и положена в основу рекомендаций МКРЗ. Однако экспериментальные данные, полученные в последние годы,

вступают в явное противоречие с этой концепцией и свидетельствуют о неправомерности линейной экстраполяции эффектов с высоких доз на низкие. При оценке эффектов биологического действия малых доз излучения, как правило, регистрируется частота цитогенетических повреждений, а именно, индукция хромосомных aberrаций (ХА) и микроядер (МЯ) в клетках разного типа, характеризующаяся четкой количественной зависимостью в широком диапазоне доз. Универсальной особенностью дозовых кривых, хорошо воспроизводимой на разных объектах является наличие дозозависимого участка, расположенного в диапазоне 0,1-0,5 Гр.

В экспериментах, выполненных на лимфоцитах периферической крови человека, на асинхронной и синхронизированной популяции клеток китайского хомячка линии V-79 и клетках меланомы человека линии BRO показано, что зависимости количества клеток с хромосомными aberrациями от дозы облучения имеют сходный ярко выраженный нелинейный характер. При облучении в диапазоне 0-0,05 Гр (лимфоциты), 0-0,1 Гр (клетки меланомы) и 0-0,2 Гр (клетки китайского хомячка) количество хромосомных повреждений резко возрастает по сравнению с контрольным уровнем (диапазон гиперчувствительности - ГЧ), затем значительно снижается, переходя в дозозависимый участок. При дозах выше 0,5 Гр резистентность клеток повышается (индуцированная резистентность - ИР) и дозовая зависимость приобретает линейный характер. Наклон кривых при переходе от ГЧ к ИР снижается в 2-3 раза для клеток китайского хомячка и меланомы и в 5-10 раз для лимфоцитов человека в зависимости от используемого метода анализа АХ. Аналогичные кривые доза-эффект получены при облучении лимфоцитов от других доноров рентгеновскими лучами. Исследование частоты различных типов aberrаций в лимфоцитах человека после γ -облучения свидетельствует о том, что ГЧ обусловлено в основном увеличением числа aberrаций хроматидного типа, которые преобладают при дозах ниже 0,5 Гр.

Исследование природы феномена ГЧ/ИР проведенное на клетках китайского хомячка и меланомы человека позволило установить, что форма кривой доза-эффект, показанная на асинхронной популяции клеток китайского хомячка по индукции хромосомных aberrаций, хорошо воспроизводится на синхронизированных клетках, облученных в фазе G₁ клеточного цикла. Это свидетельствует о том, что ГЧ обусловлена высокой радиочувствительностью популяции в целом в узком диапазоне малых доз и не связана с гибелью фракции клеток, находящихся в момент облучения в радиочувствительной фазе клеточного цикла. С ростом дозы облучения все клетки становятся более радиорезистентными, как можно предполагать, вследствие индукции процессов репарации. Таким образом, наиболее вероятное объяснение нелинейности кривой доза-эффект и перехода от ГЧ к ИР состоит в том, что при определенном уровне повреждения клеток запускаются индуцибельные репарационные системы. Следствием этого является уменьшение радиочувствительности клеток и наклона кривых. Сопоставление дозовых зависимостей индукции хромосомных aberrаций у клеток китайского хомячка и меланомы человека дает основание полагать, что индуцибельные системы репарации клеток меланомы включаются при меньших дозах и работают более эффективно, чем у клеток китайского хомячка.

В течение длительного периода совместно с радиохимиками ЛЯП В.А.Халкиным и Ю.В. Норсеевым проводились исследования биологического действия астата-211 и возможности его применения в мишенной терапии рака /9/. В самых ранних опытах была показана возможность излечения асцитных форм рака с помощью астата-211, адсорбированного на частицах теллура. Эти первые результаты побудили к поиску

методов мишенного воздействия α -излучателей на одну из самых агрессивных форм злокачественных новообразований – меланому, характеризующуюся ранним и обширным метастазированием. Именно для борьбы с микрометастазами наиболее целесообразно мишенное воздействие астата-211, при распаде которого образуются α -частицы с длиной пробега 60 мкм, что составляет несколько клеточных диаметров. В качестве средства, обеспечивающего доставку радионуклида к опухолевым клеткам использовали полициклическое соединение известное в медицине под названием «метиленовый синий» (МС) и характеризующийся высокой связывающей способностью с меланином опухолевых клеток. В системе *in vitro* на клетках меланомы человека и нормальных непигментированных клетках показано избирательное накопление соединения астат211-МС в меланинсодержащих опухолевых клетках, что вызывало в 15-20 раз более сильное поражение клеток меланомы по сравнению с нормальными клетками. На основе МС получен препарат иод-131-МС, который показал высокую эффективность для визуализации меланомы и ее метастазов на животных с привитыми опухолями. Эти исследования продолжаются в настоящее время с целью внедрения этого диагностического препарата в клиническую практику, и для разработки методов использования астата-МС для в целях предотвращения процесса метастазирования меланомы..

В последнее время в ОРПИ сформировано два самостоятельных сектора: фотобиологии и молекулярной динамики. В секторе фотобиологии начаты исследования молекулярных фото-и радиобиологических процессов в структурах глаза (сетчатка и хрусталик). Постановка такого рода задач является новым шагом в развитии биофизических исследований в ОИЯИ. Указанные разработки проводятся под руководством академика РАН М.А.Островского. Актуальность исследований обусловлена, прежде всего, необходимостью решения задач космической радиобиологии. Становится очевидным, что в условиях длительного космического полета опасность возникновения катаракты весьма вероятна. В этой связи исследование воздействия тяжелых частиц на агрегацию белков хрусталика – кристаллинов и механизмов такой агрегации является актуальной задачей. К настоящему времени имеется опыт исследования агрегации кристаллинов при действии ультрафиолетового излучения. Этот опыт может быть полезен при исследовании агрегации кристаллинов, вызванной тяжелыми заряженными частицами. Начаты исследования повреждающего действия тяжелых частиц на зрительный пигмент родопсин и на функциональное состояние сетчатки глаза. Представляется важным продолжить исследования в этом направлении, используя возможности нуклотрона.

В связи с появлением высокоэффективных компьютеров (суперкомпьютеров и специализированных кластеров, таких как, MDGRAPE-2 система) и программных пакетов многоцелевого назначения, например, DL_POLY, AMBER и CHARMM, возникли реальные возможности применения методов компьютерного молекулярного моделирования (МД) в физико-химических и биологических системах.. Одним их важных аспектов применения методов МД является расчеты конформационных изменений белков и определение их пространственной структуры с высокой точностью. Методы МД позволяют моделировать явления мутационных изменений в биологических структурах на молекулярном уровне и с высоким пространственно-временным разрешением. В секторе молекулярной динамики проводятся теоретические исследования, касающиеся моделирования белкового окружения различных изомеров ретиналя. К ним относятся исследования хромофорной группы в составе ретинальсодержащих белков, в первую очередь 11-*цис* ретиналя в составе зрительного пигмента, определяющего широкую вариабельность положения максимума спектра поглощения 11-*цис* ретиналя в составе различных зрительных пигментов, а также исключительно

высокую скорость фотоизомеризации 11-*цис* ретиналя в составе молекулы зрительного пигмента (менее 200 фемптосекунд).

Радиационные исследования. 50-60-е годы прошлого века были временем бурного развития ускорителей частиц, как важнейшего инструмента экспериментальной ядерной физики. Непрерывно росли энергии ускоренных частиц и токи выведенных из ускорителей пучков. ОИЯИ с момента своего образования складывался, преимущественно, как крупнейший ускорительный центр. Запуск реактора ИБР-30, а в последующем и реактора второго поколения ИБР-2, не изменили кардинально ситуацию, поскольку основу базовых установок ОИЯИ составляют ускорители различных типов, перекрывающих диапазон ускоренных частиц по массе в широком диапазоне и по энергии от нескольких МэВ до 10 ГэВ.

Дозиметрия, как научная дисциплина и как практика, формировалась, в первую очередь, под необходимостью обеспечения радиационной безопасности персонала, работающего на предприятиях ядерного топливного цикла. В масштабах страны численность работников, облучаемых в полях излучений на ускорителях составляла очень малую долю от общего числа работающих в радиационно-опасных условиях. С другой стороны сложность и разнообразие полей излучения на ускорителях, а также необходимость разработки специфических средств измерений характеристик полей излучения, привели к тому, что физика защиты и дозиметрия на ускорителях стала выделяться, по существу, в отдельную область физического знания. ОИЯИ, в смысле возможностей для выполнения таких исследований, является, и по сей день, уникальным центром. По этим причине большая часть научных исследований ОРБ ОИЯИ с самого момента его образования в 1963 г. (возглавил отдел М.М. Комочков) была связана с физикой защиты ускорителей и эта специфика определила направленность как научных, так и практических работ на долгое время. Начало формированию этого направления было положено в 50-х годах прошлого века в связи с вводом в эксплуатацию ускорителей на средние энергии (Космотрона в Брукхевене, Беватрона в Беркли, синхроциклотрона в Дубне). К этому времени относятся первые экспериментальные работы по исследованию защитных свойств материалов, ослаблению высокоэнергетического излучения в защите и т.д. В то время еще не были сформированы теоретические подходы для надежного расчета транспорта излучения через массивную защиту и для прогнозирования радиационной обстановки на ускорителях использовались эмпирические и феноменологические методы расчета защиты. Крайняя ограниченность экспериментального материала по развитию межъядерного каскада в объеме защиты стимулировала постановку экспериментов по физике защиты на ускорителях. В Беркли, ОИЯИ и, позднее, в ЦЕРНе, и ИФВЭ был выполнен значительный объем экспериментальных исследований, связанных, большей частью, с получением и уточнением эмпирических констант для выполнения расчетов в различных геометриях (т. е. коэффициентов, описывающих накопление излучения в первых слоях вещества и его ослабление с ростом толщины защиты). На синхроциклотроне и синхрофазотроне ОИЯИ в 60-70-е годы Комочковым М.М., Лебедевым В.Н., Алейниковым В.А. был проведен цикл комплексных исследований полей излучения как за защитами ускорителей, так и в окружающей их среде. Уже на раннем этапе исследований выяснилась особая роль нейтронов, как наиболее проникающего компонента вторичного излучения. Именно нейтроны широкого спектра энергий определяют при работе ускорителей дозу облучения за защитами у персонала и физиков-экспериментаторов.

С целью изучения механизма формирования полей рассеянного нейтронного

излучения за защитами на синхроциклотроне и синхрофазотроне ОИЯИ были выполнены модельные эксперименты по прохождению вторичных высокоэнергетичных нейтронов, генерируемых в физических мишенях пучками протонов, через локальные защиты из различных материалов. Трудность заключалась также в том, что для исследований характеристик полей рассеянного излучения за защитами пришлось разрабатывать и специфические методики измерений параметров полей. Был создан многосферный спектрометр нейтронов с широчайшим энергетическим диапазоном, радиометры высокоэнергетичных нейтронов на основе жидкого и пластического сцинтилляторов, дозиметр нейтронов (бэрметр), рекомбинационная ионизационная камера (автор изобретения М.Зельчинский), создана градуировочная линейка для целей метрологического обеспечения измерений и т. д. Развивались и методики прогнозирования радиационной обстановки на ускорителях. Так, Сычевым Б.С. был создан метод расчета защит от нейтронного излучения на основе решения системы интегрально-дифференциальных (кинетических) уравнений переноса излучений в веществе, а М.М.Комочковым В.Н.Лебедевым и Л.Н.Зайцевым разработана методика инженерных (полуэмпирических) оценок дозы и флюенса нейтронов за защитами.

Весьма сложная проблема заключалась также в создании переносного индивидуального дозиметра, который был бы способен обеспечить корректное измерение дозы человека в полях многокомпонентного (нейтроны, гамма-кванты, заряженные частицы) рассеянного излучения широкого энергетического спектра. Выпускавшиеся отечественной промышленностью индивидуальные дозиметры были непригодны для использования в полях излучений на ускорителях. Большая заслуга в разработке комбинированного дозиметра гамма-квантов и нейтронов на основе эмульсии типа МК-20 и рентгеновской пленки (кассета ИФКн) принадлежала Салацкой М.И. (руководителю группы индивидуального дозиметрического контроля в ОРБ в тот период). Данный тип индивидуального дозиметра неоднократно участвовал в международных сличениях и подтвердил адекватность своих показаний эквивалентной дозе облучения. Исследовались возможности использования и других типов радиационных детекторов для измерения индивидуальной дозы человека, в частности, термолюминесцентных детекторов на основе LiF.

Опыт организации радиационного контроля на ускорителях, приобретенный ОРБ, был, по существу, уникален в СССР, и по этой причине, основу отдела радиационной безопасности в ИФВЭ на новом ускорителе У-70 составили переехавшие из Дубны в Протвино сотрудники ОРБ ОИЯИ. Благодаря этому, а также общности решаемых проблем, сотрудничество и контакты между двумя аналогичными подразделениями ОИЯИ и ИФВЭ были и остаются самыми тесными и плодотворными.

Дальнейшие радиационные исследования в 70-80-х годах связывались, главным образом, с накоплением экспериментальных данных и одновременным развитием расчетных методик транспорта излучений через защиту. Развитие физики защиты виделось в тесной связи экспериментальных и теоретических исследований, которая питала уверенность в надежности прогнозирования ситуаций на проектируемых установках с все большими мощностями пучков и энергиями ускоренных частиц. Однако большое число накопленных к настоящему времени экспериментальных данных о характеристиках полей излучения на ускорителях, не могло быть использовано для проверки адекватности расчетных методик и имело, по существу, эмпирический характер. Стала очевидной необходимость постановки базовых (benchmark) экспериментов по физике защиты, выполненных в простых (идеализированных), но вместе с тем, типичных

для ускорителей геометриях и обладающих всей полнотой исходной информации, необходимой для адекватных расчетов. Принципиально важным было также детальное знание характеристик источников излучения (source term), особенно для ускорителей тяжелых ионов из-за практического отсутствия данных об образовании вторичных нейтронов в ядро-ядерных взаимодействиях. Такие базовые эксперименты были выполнены за защитой синхроциклотрона ЛЯП и пучках релятивистских частиц синхрофазотрона ЛВЭ. В экспериментах на синхроциклотроне были впервые исследованы двойные дифференциальные по углу и энергии выходы заряженных частиц из защиты, экспериментально оценен вклад заряженного компонента в полную дозу и флюенс излучения. Для этих исследований был создан малогабаритный dE/dx -спектрометр заряженных частиц и выполнена его градуировка на пучке фазотрона ЛЯП по протонам упругого p - p рассеяния. С помощью созданной системы датчиков для измерений угловых распределений заряженных частиц, были исследованы закономерности формирования полей излучения в различных геометриях за защитами фазотрона и синхрофазотрона.

В сравнительных экспериментах на пучках протонов, альфа-частиц и ядер ^{12}C с энергиями 3,65 ГэВ/нуклон были получены исходные данные по выходам вторичных заряженных частиц из толстых Cu - и Pb -мишеней. Методом времени пролета были впервые измерены спектры вторичных нейтронов с энергией более 10 МэВ под различными углами при взаимодействии релятивистских ядер с толстой мишенью. Эти результаты были использованы для проверки расчета транспорта частиц в веществе, а также при прогнозировании радиационной обстановки при проектировании КУТИ и нуклотрона. Для расчета защит на ускорителях ядер были разработаны программы моделирования межъядерного каскада в толстых мишенях на основе модели ядро-ядерных взаимодействий “файерстрик” и программа расчета транспорта нейтронов в защите с помощью решения системы кинетических уравнений. Степень достоверности расчетов полей вторичного и рассеянного излучения была оценена в ряде экспериментов, в частности, в базовом эксперименте по физике защиты, выполненным за относительно тонкой ловушкой пучка ядер ^{12}C с энергией 3,65 ГэВ/нуклон на синхрофазотроне ЛВЭ.

Большое внимание уделялось развитию спектрометрии нейтронов широкого диапазона энергий, как базового метода исследований радиационной обстановки и измерения мощности дозы нейтронов. Восстановление спектров нейтронов по показаниям многосферного спектрометра относится к классу обратных задач, а именно, к отысканию неизвестной причины по ряду известных следствий и сводится к решению системы алгебраизированных уравнений. На ранней стадии исследований спектрометрии нейтронов для обеспечения единственности решения уравнений использовалось априорное представление спектра линейной комбинацией нескольких известных функций (максвелловского распределения тепловых нейтронов, спадающего по закону $1/E$ спектра замедленных нейтронов, испарительных спектров с разной температурой и т. д.), т. е., по существу, задавалась очень “жесткая” априорная информация о характере искомого решения. В дальнейшем при восстановлении спектров стал использоваться метод статистической регуляризации, разработанный в 70-х гг. академиком А.Н. Тихоновым, требующий задания минимальной априорной информации. Была создана программа восстановления спектров нейтронов по показаниям различных модификаций многосферного спектрометра (с активным детектором тепловых нейтронов и с активационными детекторами). В дальнейшем методика восстановления спектров нейтронов совершенствовалась в направлении расширения рабочего диапазона спектрометра в область высоких энергий нейтронов (сотни МэВ), а также повышения

точности расчета функций чувствительности и их экспериментальной проверки. Так, еще в начале 80-х годов на пучках ИБР-30 и нейтронного генератора были выполнены экспериментальные измерения функций чувствительности многосферного спектрометра и других нейтронных детекторов, использовавшихся в оперативном радиационном контроле. Тем не менее, в силу ряда особенностей, многосферный спектрометр малоинформативен в области высоких энергий нейтронов, что, во многом, ограничивало его применимость при измерениях в жестких полях излучения за защитой фазотрона и синхрофазотрона. Для решения этой задачи был предложен оригинальный метод спектрометрии нейтронов высокой энергии в полях рассеянного излучения, обладающий высокой чувствительностью. На основе этого метода был создан новый тип спектрометра нейтронов, рассчитаны его функции чувствительности и выполнена градуировка прибора. С его помощью был выполнен большой объем измерений жестких спектров нейтронов в реальных полях за защитами ускорителей ОИЯИ и проведена корректировка показаний стационарных нейтронных датчиков радиационного контроля непосредственно на рабочих местах. Высокая чувствительность данного спектрометра к нейтронам позволила также измерить спектр космических нейтронов с энергией более 20 МэВ на поверхности земли за короткое время. В последние годы развитие нейтронной спектрометрии заключалось в совершенствовании расчетов чувствительностей многосферного спектрометра на основе современных транспортных МК программ (MCNP), включении в состав набора спектрометра гетерогенных сфер и накоплении опыта восстановления спектров нейтронов по показаниям активационных детекторов. Многосферный спектрометр был впервые использован и для исследования полей вторичных нейтронов вокруг толстой мишени, облучаемой протонами с энергией 660 МэВ. Свинцовая мишень диаметром 8 см и длиной 50 см имитировала сердечник подкритической сборки, управляемой пучком протонов фазотрона ЛЯП (проект SAD). Выбор такой методики спектрометрии позволил получить спектрально-угловые распределения нейтронов из мишени во всем энергетическом диапазоне, начиная с десятков кэВ. Данный эксперимент был выполнен для проверки расчета межъядерного каскада по наиболее известным в настоящее время транспортным программам.

Как уже отмечалось, многосферный спектрометр является, по существу, не только основным прибором для исследований полей рассеянного излучения, но и образцовым средством радиационного контроля. Однако решение проблемы метрологического обеспечения радиационных измерений на ускорителях опирается на создание системы “образцовое средство измерений – образцовый источник нейтронного излучения”. На практике, в качестве образцовых источников нейтронов применяются радиоизотопные $^{239}\text{Pu-Be}$ и ^{252}Cf источники со средними энергиями нейтронов 4,3 и 2,5 МэВ. Основным их недостатком с точки зрения метрологии является узкий энергетический диапазон, не соответствующий реальным полям излучений за защитами, что не обеспечивает необходимую точность практических измерений. Это обусловило разработку в конце 80-х годов специального метрологического обеспечения нейтронных измерений, в основе которой лежало создание эталонных (опорных) полей нейтронов широкого энергетического состава непосредственно на ядерно-физических установках и воспроизведения в них (прямым или косвенным методом) размера единиц государственного специального эталона. Первые опорные поля нейтронов начали создаваться на реакторах за несколько лет до этого и служили эталонной мерой энергетического состава нейтронного излучения. По инициативе подсекции “Радиационная защита и работа в условиях высоких уровней ионизирующего излучения” при Совете по проблемам ускорения заряженных частиц АН СССР, возглавляемой в то

время М.М.Комочковым, была поставлена задача создания подобных опорных полей нейтронов на ускорителях. Такая работа началась параллельно в ОИЯИ и ИФВЭ с начала 90-х годов, а немногим позже и в ЦЕРНЕ. В ОИЯИ было создано 4 опорных поля, 2 – на основе ^{252}Cf источника нейтронов в замедлителях разного диаметра и 2 – на основе реальных полей фазотрона ЛЯП. “Мягкое” опорное поле нейтронов было создано в лабиринте туннеля в цокольном этаже под главным залом ускорителя, а “жесткое” опорное поле – за 2-х метровой бетонной защитой фазотрона на обваловке западной стены. Были детально исследованы характеристики этих полей, созданы системы контроля их параметров и разработана метрологическая схема градуировки. В опорных полях нейтронов ОИЯИ было организовано сличение методик и средств измерений дозиметрических и физических характеристик полей нейтронов, используемых в ОИЯИ, ИФВЭ и ИАЭ (Сверк, Польша), а также выполнена градуировка ряда приборов и методик оперативного и индивидуального контроля.

Ужесточение радиационного нормирования и увеличение объема радиационного контроля на ядерно-физических установках ОИЯИ потребовали от ОРБ в середине 80-х годов нового подхода к организации зонного мониторинга, а именно, создания автоматизированных систем радиационного контроля (АСРК) на установках ОИЯИ. Следует отметить, что опыта создания подобных систем на ускорителях в то время не существовало. На реакторе ИБР-2 автоматизированная система контроля была создана аналогичной тем, которые использовались на атомных станциях. Однако специфика полей излучения за защитами ускорителей, вариабельность режимов их работы, изменение статуса зон радиационного наблюдения в зависимости от режимов и т. д. делали невозможным применение систем АЭС на ускорителях. Для решения поставленной задачи была разработана трехуровневая схема автоматизированной системы, первый уровень которой состоял из десятков стационарных датчиков нейтронов и гамма-квантов, второй уровень – из интеллектуальных контроллеров крейтов для сбора информации с датчиков и управления ими и третий уровень – ПК для визуализации и документирования данных и управления работой системы в целом. Были разработаны нейтронные каналы системы со стационарными датчиками нейтронов широкого диапазона энергий на основе коронных счетчиков в замедлителях, отлично зарекомендовавших себя в процессе многолетней эксплуатации, созданы специализированные блоки электроники для второго уровня систем, разработано программное обеспечение для второго и третьего уровней, создана метрологическая схема поверки и градуировки датчиков. АСРК с некоторыми специфическими отличиями были созданы на фазотроне ЛЯП, синхрофазотроне ЛВЭ и ускорителях ЛЯР и работают, постоянно совершенствуясь, уже около 20 лет.

Примерно с середины 80-х годов, параллельно с созданием АСРК, начались работы по перестройке системы индивидуального дозиметрического контроля (ИДК). Традиционные методы фотоконтроля, основанные на использовании рентгеновских пленок для оценки дозы гамма-квантов и ядерных эмульсий для регистрации нейтронов, не обладали необходимой оперативностью, при том, что число сотрудников стоящих на дозконтроле достигало 2 тыс. человек. Стали проявляться и проблемы, связанные с поставкой пленок с ядерной эмульсией. Выход из ситуации виделся в кардинальном изменении методики ИДК и переходе (частично или полностью) на контроль с помощью термолюминесцентных детекторов (ТЛД). Альтернативой фото-дозиметру виделся альbedo-дозиметр нейтронов с двумя ТЛД на основе ^6Li и ^7Li , регистрирующий мягкие нейтроны, перерассеянные в дозиметр из тела человека. В Отделе были развернуты работы по созданию такого дозиметра и автоматизации обработки его данных. Попытки

создания прибора для считывания показаний ТЛД предпринимались в ОРБ еще в 70-х годах, до того, как появились промышленные приборы. В ходе работ над созданием алbedo-дозиметра испытывались различные виды ТЛД, выполнялись расчеты чувствительности дозиметра и градуировка, проводились его испытания в реальных полях нейтронов. В силу ряда присущих методу ТЛД недостатков, полностью отказаться от фотоконтроля не удалось, и работа завершилась созданием новой комбинированной кассеты ИДК, обработка ТЛД которой проводится на приборах фирмы HARS AW.

Опыт, накопленный в отделе по физике защиты ускорителей и владение методами расчета транспорта частиц в веществе, был использован при проектировании ряда защит отдельных установок или зданий на ускорителях ОИЯИ. ОРБ принимал участие в проектировании вариантов ускорительных комплексов тяжелых ионов (КУТИ, УКТИ) и Нуклотрона. ЛВЭ. В конце 80-х специалисты Отдела принимали участие в проектировании циклотрона института “Vincha” в Белграде (Югославия).

После создания Отделения радиационных и радиобиологических исследований в 1995 году, исследования по дозиметрии излучений и физике защиты выполнялись в рамках проекта по радиационным исследованиям. Основными направлениями исследований были: исследования характеристик перспективных детекторов и дозиметров, спектрометрия нейтронов широкого диапазона энергий, оптимизация радиационной безопасности и защиты от излучений, физическая поддержка радиобиологических экспериментов, контроль облучения персонала и мониторинг радиоактивности в окружающей среде, подготовка специалистов по радиационной безопасности.

Обширные исследования проведены исследования характеристик трековых твердотельных детекторов и детекторов тепловых нейтронов в полиэтиленовых замедлителях. В частности, совместно с сотрудниками Института Ядерной Физики (Прага, Чешская Республика) была измерена эффективность регистрации тяжелых ядер C, Mg, Ar и Fe трековым детектором из CR-39 .

В связи с работами по созданию в Словацкой Республике циклотронного центра для ускорения ионов с $A \leq 130$ и энергией до 72 МэВ/нуклон, который с точки зрения радиационной безопасности является локальным техногенным источником повышенного радиационного риска, потребовалось выполнить комплекс исследовательских и проектных работ, чтобы свести к минимуму влияние излучений от ускорителя на окружающую среду и оптимизировать возможное облучение персонала в соответствии с принципом ALARA. В контексте проектирования систем радиационной безопасности Словацкого циклотронного центра принцип ALARA (аббревиатура английского выражения “As Low As Reasonably Achievable”) можно сформулировать следующим образом: источники излучений и установки комплекса должны быть обеспечены наилучшими из имеющихся в существующих условиях мерами защиты и безопасности так, чтобы величина и вероятность облучения и число лиц, подвергшихся облучению, сохранялось на разумно достижимом низком уровне с учетом экономических и социальных факторов, и чтобы дозы облучения от источников и установок и связанные с ними риски были ограничены. В соответствии с этим принципом была разработана концепция радиационной безопасности Словацкого циклотронного центра включающая: возможные источники ионизирующих излучений, защита от излучений, радиационный мониторинг, обращение с радиоактивными источниками, анализ возможных радиационных аварий, влияние ускорительного центра на окружающую среду.

Одной из важных задач, связанных с контролем нераспространения ядерного оружия, осуществляемым Международным агентством по атомной энергии (МАГАТЭ), является измерение слабых потоков нейтронов в интенсивных полях гамма-излучения при контроле перемещения делящихся. По заказу МАГАТЭ были проведены исследования характеристик различных детекторов тепловых нейтронов с полиэтиленовыми замедлителями, оптимизированы параметры аппаратуры, изготовлен и испытан в интенсивных полях гамма-излучения прототип монитора нейтронов на основе “коронного” счетчика для регистрации возможного перемещения ядерных материалов.

Контроль облучения персонала с использованием индивидуальных дозиметров является существенным компонентом при оценке эффективности любой программы радиационной безопасности направленной на ограничение облучения работников. Изменение концепции радиационной безопасности в начале 90-х годов после публикации новых рекомендаций Международной комиссии по радиологической защите в 1990 стимулировало разработку новых международных стандартов по радиационной безопасности, которые были подготовлены международными организациями, утверждены Советом Управляющих МАГАТЭ и опубликованы в 1996 году.

В этих международных стандартах по радиационной безопасности приняты новые операционные величины для целей радиационного мониторинга. В частности, для индивидуальной дозиметрии сильно проникающего излучения в соответствии с этими стандартами следует использовать новую операционную величину индивидуальный дозовый эквивалент, $H_p(10)$, чтобы продемонстрировать выполнение требования не превышения установленных пределов доз облучения. Принимая во внимание технические трудности, связанные с введением новых радиационных величин измерений для измерений доз облучений, МАГАТЭ организовало исследовательскую программу по сравнению индивидуальных дозиметров, используемых в государствах – членах МАГАТЭ из Восточной Европы. Целью этой программы являлось предоставить возможность службам индивидуальной дозиметрии оценить энергетические и угловые зависимости чувствительности дозиметров, а также возможность измерять характеристики полей излучения в терминах индивидуального дозового эквивалента, $H_p(10)$.

В связи с большим опытом в исследовании характеристик индивидуальных дозиметров и возможностями ОРПИ по метрологическому обеспечению дозиметрических измерений, по просьбе МАГАТЭ ОИЯИ принял участие в этой программе в качестве метрологической лаборатории. В рамках этой программы была проверена готовность 23 служб индивидуальной дозиметрии к измерению $H_p(10)$ в полях гамма-излучения с различными энергетическими распределениями частиц, а также измерить энергетические и угловые функции чувствительности используемых дозиметров в терминах индивидуального дозового эквивалента. Выполненные исследования позволили существенно повысить достоверность измерения индивидуального дозового эквивалента в государствах-членах МАГАТЭ из Восточной Европы.

Большой объем работ в ОРПИ был выполнен по созданию установок для прецизионной дозиметрии пучков заряженных частиц ускорителей ОИЯИ. Для этих измерений на ускорителе У-200 был создан экспериментальный канал и специальная установка, позволяющая проводить автоматическую смену образцов, а также разработана методика измерения поглощенной дозы низкоэнергетических ионов. Для облучений на Нуклотроне ЛВЭ также была разработана методика формирования квазиплоского дозного поля и измерения поглощенной дозы в образцах, что позволило выполнить цикл

исследований на пучках протонов, альфа-частиц, ядер углерода и магния.

Специалисты ОРПИ, помимо работы над темой Отделения, принимают активное участие в выполнении работ по другим институтским темам, в частности, в проектировании подкритической сборки, управляемой пучком протонов фазотрона ЛЯП, в градуировке прибора HEND, предназначенного для поиска воды на Марсе, в работах по трансмутации радиоактивных отходов АЭС и т.д.

Международное сотрудничество. С первых шагов образования сектора биологических исследований (СБИ) ЛЯП в 1978 г. радиобиологи ОИЯИ начали активно сотрудничать со специалистами стран-участниц ОИЯИ. Среди радиобиологов, участвовавших в работах сектора в тот период, были сотрудники Института Берлин-Бух (ГДР, Берлин). Возглавляли эту группу профессор Х.Абель и доктор Г.Эрцгребер. Начало сотрудничеству с немецкими специалистами из Берлин-Буха положили контакты между радиобиологами этого института и Научно-исследовательского института медицинской радиологии (НИИМР, г.Обнинск). В 60-е и 70-е годы в НИИМР работал всемирно известный генетик и радиобиолог профессор Н.В.Тимофеев-Ресовский. Под влиянием его работ в довоенный период в Берлин-Бухе сформировалась активно работавшая школа радиобиологов. Поэтому после создания СБИ ЛЯП, который возглавил профессор В.И.Корогодин, ранее много лет работавший с Н.В.Тимофеевым-Ресовским, совместные работы с немецкими коллегами были начаты и в ОИЯИ.

Областью исследований, проводимых в сотрудничестве с Институтом Берлин-Бух, было изучение молекулярных механизмов повреждений ДНК в клетках высших организмов при действии ускоренных тяжелых ионов. В короткие сроки был создан комплекс аппаратуры, который позволил изучать закономерности и механизмы образования двунитевых разрывов ДНК в клетках млекопитающих, культивируемых *in vitro*. Были получены уникальные материалы, позволившие расшифровать различные аспекты летального действия излучений с разными физическими характеристиками на клетки высших организмов.

В этот же период в СБИ проводились совместные работы с Институтом ядерной химии и технологии (Варшава, ПНР). Возглавлял эти работы с польской стороны доктор О.Росек. Целью этих исследований было сравнительное изучение летального действия излучений широкого диапазона линейной передачи энергии (ЛПЭ) на две линии клеток лимфомы, обладающих разной способностью к репарации повреждений ДНК. В ходе этих работ было показано существенное различие в радиочувствительности двух линий клеток (радиорезистентной – с нормальной способностью к репарации ДНК, и радиочувствительной – имеющей дефект в репарационной системе). При возрастании ЛПЭ тяжелых заряженных частиц наблюдалось нивелирование радиочувствительности двух клеточных линий, свидетельствующее об индукции прямых двунитевых разрывов ДНК излучениями с высокой ЛПЭ.

Цитологическое действие ионизирующих излучений на растительные клетки, культивируемые *in vitro* изучалось специалистом из Университета им.Каменского в Братиславе (Чехословакия) Е.Глинковой.

Теоретическими разработками, направленными на моделирование спонтанного мутационного процесса в клетках низших эукариот, в начале 80-х годов успешно занимался математик из Венгрии Ф.Чаба (ЦИФИ, Будапешт). В этот же период в СБИ активно работал другой теоретик из Чехословакии В.Лисы (Университет в г.Кошице), занятый анализом проблемы наличия давидовских солитонов в ДНК.

В начале 80-х годов в секторе начали активно развиваться радиобиологические исследования на ускорителях тяжелых ионов ЛЯР. Основной задачей этих исследований являлось выяснение механизмов, определяющих различия в биологической эффективности ионизирующих излучений с разными физическими

характеристиками. В решение этой проблемы активно включились специалисты из Чехословакии С.Козубек (ИБФ ЧСАН, Брно) и несколько позднее В.Михалик (ИРБ, Прага).

С.Козубек интенсивно работал над созданием модели, описывающей закономерности летального действия излучений широкого диапазона ЛПЭ на клетки бактерий с разной способностью репарации повреждений ДНК. В рамках этой модели удалось описать летальные радиационные эффекты в бактериальных клетках (форма кривой выживаемости клеток, зависимость радиочувствительности от ЛПЭ, кислородный эффект, действие радиопротекторов различных классов), индуцируемые тяжелыми заряженными частицами. Было показано, что специфика действия многозарядных ионов на генетический аппарат клеток может определяться кластерным типом повреждений ДНК, индуцируемых тяжелыми ионами.

Микродозиметрический анализ выхода различных типов повреждений ДНК при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками был выполнен В.Михаликом (ИРБ, Прага). Было показано, что с ростом ЛПЭ увеличивается выход кластерных повреждений одно- и двунитевой ДНК. Эта зависимость описывается кривой с локальным максимумом и положение максимума для различных типов кластерных повреждений не является инвариантным. Эти работы явились пионерскими и впоследствии получили продолжение во многих западных научных центрах.

Широкий фронт исследований, касающийся мутагенного действия излучений с разной ЛПЭ на клетки, в период 1985-90 гг. проводила интернациональная группа специалистов – физиков и радиобиологов (М.Бонев – ИЯИАЭ, Болгария, С.Козубек – ЧССР, Б.Токарова – ЧССР, Ф.Чаба – ВНР). Для выяснения относительной роли физического и биологического факторов в индуцированном мутационном процессе С.Козубеком были предприняты исследования индукции прямых и обратных мутаций у клеток бактерий. Было установлено, что дозовая зависимость частоты мутирования клеток имеет линейно-квадратичный характер. При облучении клеток частицами с возрастающими значениями ЛПЭ была показано, что характер зависимости частоты мутирования от дозы облучения не меняется с ростом ЛПЭ, но изменяется лишь относительная генетическая эффективность излучений. Зависимость ОГЭ от ЛПЭ описывается кривой с локальным максимумом. В рамках развитых С.Козубеком теоретических подходов нашли объяснение различия в положении максимумов зависимостей относительной биологической эффективности по критерию летального и мутагенного действия от ЛПЭ. Они обусловлены разным характером повреждений ДНК, участвующих в реализации мутагенеза и летальных эффектов облучения. В первом случае ими являются преимущественно поврежденные основания, во втором - двунитевые разрывы ДНК. В 1989 г. С.Козубеком была успешно защищена докторская диссертация по данной теме.

М.Боневым были детально изучены закономерности и механизмы индукции профага лямбда излучениями с разными физическими характеристиками. Эти работы позволили оценить роль индуцибельной системы репарации у клеток прокариот в реализации мутационного процесса, вызванного ионизирующими излучениями разного качества.

С 1985 г. и по настоящее время осуществляется плодотворное сотрудничество с группой радиобиологов из GSI (Дармштадт, ФРГ), руководимых проф. Г.Крафтом и С.Риттер. На протяжении многих лет специалисты ОРПИ проводят совместные эксперименты на пучках тяжелых ионов ускорителя GSI. Целью этих работ является изучение цитогенетическое действие ускоренных тяжелых ионов на клетки млекопитающих в культуре и лимфоциты крови человека. Активное участие сотрудники ОРПИ принимали в предклиническом исследовании радиобиологических характеристик пучков ускоренных многозарядных ионов, предназначенных для терапии рака.

Активное сотрудничество в области генетического действия тяжелых заряженных частиц в период с 1990 по 1998 гг. осуществлялось с Институтом космической биологии и медицины Германии (Кёльн, ФРГ). С немецкой стороны в этих работах участвовала группа специалистов во главе с д-ром Г.Хорнек. Эти исследования касались разработки нового метода изучения кинетики экспрессии индуцибельных оперонов клеток на основе люциферазной реакции. Интернациональная группа разработала эффективный и простой в использовании метод (SOS-Luxtest), позволяющий в режиме реального времени определять степень повреждения генетического аппарата живых клеток при действии ионизирующего излучения, ультрафиолетового света и химических канцерогенов. Для этой цели была создана генетическая конструкция, включающая в себя гены светящихся бактерий, контролирующие синтез белков, участвующих в реакции свечения (Lux-гены). При возникновении повреждений в ДНК репрессия работы генов снимается, что приводит к запуску реакции свечения. В результате этого клетки, несущие указанную генетическую конструкцию, испускают свет в видимой области, причем световой выход прямо зависит от степени повреждения ДНК и может легко измеряться. Таким образом, по своей сути SOS-Luxtest оказался уникальным биологическим дозиметром и мог быть широко использован в различных областях: в экологических целях для быстрого экспресс-анализа загрязнений химическими канцерогенами и мутагенами, в фармакологии – для исследования возможной мутагенности новых лекарств, в химической и пищевой промышленности.

Для развития этих перспективных разработок группа получила финансовую поддержку в виде гранта по программе «Коперникус» (г.Брюссель, Бельгия). В результате был создан прибор, позволяющий в режиме on line регистрировать наличие в среде обитания мутагенных факторов физической и химической природы.

В области генетики дрожжевых клеток на протяжении ряда лет проводятся совместные работы с профессором Н.Бабудри из Университета в г. Перуджи (Италия). Они связаны с изучением генетического контроля мутагенеза в условиях голодания клеток. Эта задача касается проблемы генетического контроля остановки клеточного цикла при получении повреждений ДНК. В последние годы становится более видимой взаимосвязь различных компонентов интегрального клеточного ответа на повреждения ДНК, обеспечивающего стабильность и целостность генома. Показана связь механизмов контроля клеточного цикла и механизма репарации повреждений ДНК. Механизм, обеспечивающий контроль и координацию этих процессов, был открыт в конце 80-ых годов прошлого века и назван checkpoint контролем. Этот механизм позволяет клеткам выживать и поддерживать генетическую стабильность и регулируется checkpoint генами. Считается, что нарушение checkpoint путей, приводящее к увеличению мутабельности и геномной нестабильности, имеет важное значение на ранних стадиях канцерогенеза.

На протяжении ряда лет (1988-1997 гг.) радиобиологи ОРПИ плодотворно сотрудничали с НАСА (США). Руководителем этих работ со стороны НАСА являлся д-р Т.Янг. В рамках совместного научного соглашения о сотрудничестве между ОИЯИ и НАСА успешно проводились эксперименты на синхрофазотроне. Целью этих исследований являлось установление величины относительной биологической эффективности протонов с энергией 1 – 5 ГэВ. В экспериментах на лимфоцитах крови человека были изучены закономерности индукции нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций. Было установлено, что величины ОБЭ протонов релятивистских энергий не превышают значения биологической эффективности гамма-излучения.

В настоящее время ОРПИ продолжает активное сотрудничество с Институтом биофизики ЧАН (г.Брно). Эти исследования касаются проблемы цитогенетических механизмов индукции стабильных хромосомных aberrаций в клетках человека излучениями широкого диапазона ЛПЭ. С чешской стороны работы возглавляются д-ром С.Козубеком. Продолжаются совместные со специалистами Университета им.Коменского (г.Братислава, Словакия) исследования цитологического действия тяжелых заряженных

частиц на растительные клетки. Плодотворно развивается сотрудничество с Институтом ядерной химии и технологии (Варшава, Польша). С польской стороны под руководством профессора А.Войцека проводится изучение закономерностей и механизмов возникновения различных видов хромосомных aberrаций (нестабильных повреждений хромосом и транслокаций) при действии различных доз ускоренных заряженных частиц. Близкие по задачам исследования ОРПИ систематически проводит с GSI (Дармштадт, Германия). Активное сотрудничество в последнее время налажено с Минским Государственным университетом (Республика Беларусь). Эти работы нацелены на изучение механизмов катарактогенного действия тяжелых заряженных частиц высоких энергий, исследование механизмов воздействия излучений разного качества на зрительный пигмент – родопсин.

В последнее время активно развивается сотрудничество со специалистами из Японии (РИКЕН, Университет Кейо, Центр Науки Генома РИКЕНа), Великобритании (Даресбури Лаборатори), США (Национальный Институт Здоровья, Университет Небраски), Университеты Хоккайдо, Канагава и Тохоку в Японии. Указанное международное сотрудничество базируется на работах Холмуродова Х.Т. в области применения методов компьютерного молекулярного моделирования в физико-химических и биологических системах. Следует отметить, что методы молекулярной динамики (МД), в особенности для биофизических исследований, приобрели в последние годы исключительное значение, связанное с появлением высокоэффективных компьютеров (суперкомпьютеров и специализированных кластеров, таких как, MDGRAPE-2 система) и программных пакетов многоцелевого назначения, например, DL_POLY, AMBER и CHARMM. Одним из важных аспектов применения МД является расчеты конформационных изменений белков и определение их пространственной структуры с высокой точностью. Методы МД позволяют моделировать явления мутационных изменений в биологических структурах на молекулярном уровне и с высоким пространственно-временным разрешением.

Уникальность ядерно-физических установок ОИЯИ и создаваемые ими поля ионизирующих излучений потребовали разработки и создания новых средств радиометрии и дозиметрии ионизирующих излучений. Созданный сотрудником ОИЯИ из Польши М.Зельчинским в 60х годах рекомбинационный дозиметр смешанного ионизирующего излучения позволил измерить поглощенные и эквивалентные дозы, а также коэффициенты качества излучений в пучках и полях рассеянного излучения ускорителей и импульсного быстрого реактора.

Информация об энергетических зависимостях чувствительности дозиметров является основой при измерениях характеристик сложных по компонентному составу и энергетическому распределению полей ионизирующих излучений. Поэтому одним из основных направлений международного сотрудничества на протяжении последних десятилетий является исследование характеристик дозиметров и детекторов, используемых в странах-участницах ОИЯИ. Совместно с болгарскими из Софии (И.Мишев, М.Гелев), немецкими из Дрездена (Л.Ветцель, Г.Таут, Б.Дершель, Г.Хан и др.), польскими из Сверка (М.Зельчинский, С.Пшона), словацкими из Братиславы (Д.Никодемова, М.Фюлоп), чешскими из Праги (Ф.Спурны, З. Спурны и др.) специалистами были исследованы энергетические зависимости чувствительности спектрометра Боннера, твердотельных и эмульсионных трековых детекторов, термолюминесцентных детекторов.

С целью определения точности измерения радиационных характеристик полей излучения проборами, используемыми в странах-участницах ОИЯИ в 70-х годах была проведена серия сравнительных измерений в полях излучений ускорителей протонов ОИЯИ, в пучке ИБР-30 и полях на основе ^{252}Cf в полиэтиленовых замедлителях и полях излучения ускорителей ЦЕРНа. В этих измерениях приняли специалисты из Болгарии, Польши, Румынии, СССР и Чехословакии. Результаты этих исследований показали, что

регламентированная точность измерения радиационных характеристик полей излучения достигается лишь в отдельных случаях. Эти исследования позволили скорректировать метода дозиметрии, используемые в странах- участницах ОИЯИ.

После создания Отделения радиационных и радиобиологических исследований расширилось сотрудничество с Международным агентством по атомной энергии. Это сотрудничество выполнялось по трем направлениям: выполнение целевых исследований по просьбе МАГАТЭ; участие в программах координационных исследований МАГАТЭ; организация и проведение образовательных курсов МАГАТЭ.

Как известно, контроль за нераспространением ядерного оружия осуществляет Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ). Одной из проблем осуществляемого контроля является измерение слабых потоков нейтронов в интенсивных полях гамма-излучения при контроле перемещения делящихся. По заказу МАГАТЭ были проведены исследования характеристик различных детекторов тепловых нейтронов с полиэтиленовыми замедлителями, оптимизированы параметры аппаратуры, изготовлен и испытан в интенсивных полях гамма-излучения прототип монитора нейтронов на основе “коронного” счетчика для регистрации возможного перемещения ядерных материалов.

Контроль облучения персонала с использованием индивидуальных дозиметров является существенным компонентом при оценке эффективности любой программы радиационной безопасности направленной на ограничение облучения работников. Изменение концепции радиационной безопасности в начале 90-х годов после публикации новых рекомендаций Международной комиссии по радиологической защите в 1990 стимулировало разработку новых международных стандартов по радиационной безопасности, которые были подготовлены международными организациями, утверждены Советом Управляющих МАГАТЭ и опубликованы в 1996 году. В этих международных стандартах по радиационной безопасности приняты новые операционные величины для целей радиационного мониторинга. В частности, для индивидуальной дозиметрии сильно проникающего излучения в соответствии с этими стандартами следует использовать новую операционную величину индивидуальный дозовый эквивалент, $H_p(10)$, чтобы продемонстрировать выполнение требования не превышения установленных пределов доз облучения. Принимая во внимание технические трудности, связанные с введением новых радиационных величин измерений для измерений доз облучений, МАГАТЭ организовало исследовательскую программу по сравнению индивидуальных дозиметров, используемых в государствах – членах МАГАТЭ из Восточной Европы. Целью этой программы являлось предоставить возможность службам индивидуальной дозиметрии оценить энергетические и угловые зависимости чувствительности дозиметров, а также возможность измерять характеристики полей излучения в терминах индивидуального дозового эквивалента, $H_p(10)$.

В связи с большим опытом в исследовании характеристик индивидуальных дозиметров и возможностями ОРРИ по метрологическому обеспечению дозиметрических измерений, по просьбе МАГАТЭ ОИЯИ принял участие в этой программе в качестве метрологической лаборатории. В рамках этой программы была проверена возможность 23 служб индивидуальной дозиметрии измерять $H_p(10)$ в полях гамма-излучения с различными энергетическими распределениями частиц, а также измерить энергетические и угловые функции чувствительности используемых дозиметров в терминах индивидуального дозового эквивалента. Выполненные исследования позволили существенно повысить достоверность измерения индивидуального дозового эквивалента в государствах-членах МАГАТЭ из Восточной Европы.

В 1996 и 1999 годах по просьбе МАГАТЭ совместно с УНЦ ОИЯИ были проведены образовательные курсы для молодых специалистов по радиационной безопасности. На этих курсах прошли подготовку несколько десятков специалистов из, практически, всех стран-участниц ОИЯИ, а также из Эстонии, Литвы и Латвии.

Подготовка кадров. На протяжении более десяти лет в ОРРИ ведется работа по подготовке молодых специалистов в области радиобиологии и в области физики защиты и дозиметрии. С первых шагов по организации УНЦ ОИЯИ была сформирована кафедра радиобиологии как филиал кафедры МИФИ, открыта аспирантура по специальности «Радиобиология». На кафедре проходили обучение после 7 семестра студенты физических факультетов различных ВУЗов (МИФИ, МГУ, МФТИ и других). Многие после защиты дипломов продолжили обучение в аспирантуре и защитили кандидатские диссертации.

В 1998 г. по инициативе Дирекции ОИЯИ в Университете Дубна была открыта кафедра Биофизики. В задачу кафедры входит подготовка дипломированных специалистов по направлению “Радиационная безопасность человека и окружающей среды” со специализацией “Радиационная биофизика” и “Биофизика фотобиологических процессов”. В рамках специализаций осуществляется подготовка специалистов-физиков, самостоятельно работающих в области биологии и решающих её экспериментальные, теоретические и прикладные задачи. Кафедра обеспечивает математическое, физическое, химическое и биологическое образование по базовым и специальным курсам: “Общая биология”, “Молекулярная биология”, “Общая радиобиология”, “Клиническая радиобиология”, “Физиология”, “Цитология”, “Микробиология”, “Биофизика”, “Биохимия”, “Повреждения и репарация ДНК”, “Радиационная генетика”, “Фотохимия и фотобиология первичных процессов зрения”, “Радиационная защита”, “Дозиметрия излучений”, “Математические методы моделирования в радиационной физике, биологии, экологии”, и другим курсам. Кафедра осуществляет научно-исследовательские работы в области радиобиологии, радиационной генетики, кинетики первичных фотобиологических процессов, цитологии, молекулярной биологии, использования радионуклидов в медицинских целях, микродозиметрии, математического моделирования динамических биологических процессов. Проводит учебные и производственные практики в учебно-экспериментальных лабораториях на базе Объединенного института ядерных исследований с целью закрепления теоретических знаний. В число учебно-экспериментальных лабораторий входят: лаборатория микробиологии, лаборатория цитологии, лаборатория молекулярной биологии, лаборатория фотобиологии, лаборатория дозиметрии и физики защиты, лаборатория экспериментальных методов ядерной физики. На кафедре открыта аспирантура по специальности «Радиобиология».

Профессорско-преподавательский состав кафедры – специалисты высшей квалификации: академик РАН М.А.Островский, профессора, ученые Объединенного института ядерных исследований, Московского инженерно-физического института, Института общей генетики РАН, других крупнейших научных центров. Заведует кафедрой доктор биологических наук, профессор Е.А.Красавин.

Литература

1. Красавин Е.А., Проблема ОБЭ и репарация ДНК. М.:Энергоатомиздат, 1989, 193 с.
2. Красавин Е.А., Козубек С. Мутагенное действие излучений с разной ЛПЭ. М.:Энергоатомиздат, 1991, 183 с.
3. Репин М.В., Говорун Р.Д., Красавин Е.А. Ж. Физика элементарных частиц и атомного ядра (ЭЧАЭ) т. 47, вып. 36, 2002, с. 746-766.
4. Govorun R.D., Koshlan I.V., Koshlan N.A., Krasavin E.A., Shmakova N.L. In: Adv. Space Res., V.30, N 4, 2002, pp. 885-890.
5. Булах А.П., Борейко А.В. ОИЯИ Р19-2000-109, 1-14.

6. Колтовая Н.А., Кадышевская Е.Ю. Докл. РАН, 1997, т.357, №5, с.710-712.
7. Колтовая Н.А., Майорова Е.С., Рзянина А.В., Герасимова А.С., Девин А.Б. Генетика. 2001.т.37,№9,с.1213-1224.
8. Н.Л.Шмакова,Е.А.Насонова, Е.А.Красавин, Л.А.Мельникова, Т.А.Фадеева Препринт ОИЯИ Р19 2003 –20.
9. Шмакова Н.Л., Куцало П.В., Норсеев Ю.В., Красавин Е.А. и др. Медицинская радиология и радиационная безопасность. Т. 47, N 3, 2002, стр. 5-13.



