

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

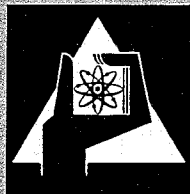
Oktober 1967

KFK 698

Institut für Strahlenbiologie

Entwicklung und einige aktuelle Probleme
der molekularen Strahlenbiologie

K. G. Zimmer



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG

KARLSRUHE

1870
1871
1872
1873
1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025

Sonderdruck aus

STRAHLENTHERAPIE Band 134, Heft 2 (1967), S. 161—174

Herausgegeben von Josef Becker, Rudolf Birkner, Hanns Langendorff

VERLAG URBAN & SCHWARZENBERG · MÜNCHEN — BERLIN — WIEN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

**Entwicklung und einige aktuelle Probleme
der molekularen Strahlenbiologie**

Von

Karl G. Zimmer

Mit 4 Abbildungen

Erfahrungsgemäß ist es nützlich und notwendig, Entwicklung und aktuelle Aufgaben eines Wissenschaftszweiges von Zeit zu Zeit in größerem Zusammenhang zu betrachten. Andernfalls gehen in der Fülle der Beschäftigung mit Einzelfragen leicht die eigentlichen Ziele und die allgemeine Bedeutung der Arbeit verloren. Dementsprechend muß unsere Untersuchung bezüglich der Strahlenbiologie, von einem kurzen historischen Überblick ausgehend, sachliche Fragen behandeln, die, wie Sie sehen werden, unmittelbar das Thema der Tagung berühren und daher auch eine Einführung in dessen aktuelle Probleme bilden. In der Vorrede zu dem ausgezeichneten Lehrbuch von *A. M. Kuzin* und *N. I. Shapiro* „Grundlagen der Strahlenbiologie“ (1964) wird erwähnt, daß die praktisch gleichzeitig, wenn auch wegen der Kriegsverhältnisse weitgehend unabhängig voneinander erschienenen Bücher von *D. E. Lea* (1946) und von *N. W. Timoféeff-Ressovsky* und *K. G. Zimmer* (1947) die ersten „theoretischen Verallgemeinerungen auf dem Gebiet der Wirkung von Strahlungen auf biologische Objekte“ darstellten und daß sich „gerade in diesen Jahren die neue wissenschaftliche Disziplin ‚Strahlenbiologie‘ bildete“. Wir können daher unsere Betrachtungen zweckmäßig mit der Frage beginnen, worin das Wesen der genannten theoretischen Verallgemeinerungen bestand und wie sie in den seither vergangenen 20 Jahren weiterentwickelt wurden.

1. Mikroverteilung der Energieübertragungsvorgänge und Strukturhierarchie des Zellaufbaus

Die Autoren beider Bücher gingen von der endgültig sichergestellten Tatsache der Quantelung der Wechselwirkung ionisierender Strahlung mit Materie und von der keinen Zweifel zulassenden Feststellung der funktionellen und mikrogeometrischen Heterogenität des Aufbaus der Zelle aus. Das Ziel bildete der Nachweis eines Zusammenhanges zwischen den als Folge von Energieabsorptionsvorgängen auftretenden Schädigungen der entsprechenden elementaren

Einleitungsreferat zur 6. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biophysik in Travemünde, 21./22. 9. 1967: „Biophysik der Neutronen-, Ionen- und Hochenergiestrahlungen“.

Einheiten des Biosubstrats und den registrierbaren Einheiten strahlenbiologischer Reaktion. Als Ausgangspunkt und Material der Untersuchungen dienten besonders die Befunde der Strahlengenetik an der Fliege *Drosophila*. Neben der Übereinstimmung in den gedanklichen Grundlagen und im experimentellen Stoff weisen aber beide Bücher noch zwei weitere gemeinsame Züge auf, die für unsere Überlegungen besonders wichtig sind. Es handelt sich einmal um die bewußt als erste Annäherung gemachte Annahme einer linearen Proportionalität zwischen den potentiell wirksamen und den wirklich beobachtbaren Schäden sowie zweitens um die ebenfalls bewußt eingeführte Begrenzung der physikochemischen Analyse auf das Eintreten einer Ionisation als erste Stufe der Reaktionskette. Die daran unmittelbar anschließenden Stufen wurden als chemische Reaktionen angesehen, aber nicht näher untersucht. Damit waren sowohl die Vorgänge der Restitution (Wiederherstellung) potentiell wirksamer Treffer wie auch das Problem der Aufklärung der physikochemischen Reaktionen, die sich an die Ionisation anschließen, zunächst außerhalb der Betrachtung geblieben. Eine Prüfung der Analyse bezüglich der erwähnten vereinfachenden Annahmen war selbstverständlich nötig und bildete den Gegenstand vieler Untersuchungen während der anschließenden Jahre. Dabei ergab sich, daß die Beziehungen zwischen den potentiell wirksamen und den beobachtbaren Schäden im allgemeinen von der versuchsweise angenommenen linearen Proportionalität sehr verschieden, so verwickelt und auch von Objekt zu Objekt so unterschiedlich sind, daß dadurch in vielen, wenn nicht den meisten Fällen die Aufzeigung eines Zusammenhanges zwischen den statistisch verteilten Energieübertragungsvorgängen und den beobachtbaren Einheiten strahlenbiologischer Reaktion unmöglich gemacht wird.

Worin die Schwierigkeiten bestehen, läßt sich außer an besonders krassen Beispielen, über die wir bereits früher berichteten (*Zimmer, 1966*), auch leicht in allgemeiner Form zeigen. Wir haben wiederholt darauf hingewiesen, daß aus Dosiseffektkurven ohne Zuhilfenahme weiterer Information nur *formale* Treffbereiche v als Produkt aus dem realen Volumen des *wahren* Treffbereichs τ und einer Wirkungswahrscheinlichkeit p , also $v = p \cdot \tau$, berechnet werden können (vgl. *Timoféeff-Ressovsky* u. *Zimmer, 1947*). Dabei wurde nach allen früheren Ansätzen $p = \text{const}$ bezüglich Dosis und Zeit angenommen. Das jetzt experimentell bewiesene Auftreten von Restitutions- und Reaktivierungsvorgängen verschiedener Art, deren Verlauf oder Ausmaß ihrerseits in zunächst unbekannter, aber nachweisbarer Weise von Bestrahlungsdosis D oder Versuchsdauer t abhängen, verlangt den Ansatz $p = f(D, t) \neq \text{const}$. Das bedeutet aber nicht nur eine weitere Erschwerung der Berechnung von Treffbereichen nach der Treffbereichstheorie, sondern auch der Auswertung von Dosiseffektkurven nach der Treffertheorie. Wenn bei Annahme von $p = \text{const}$ die Auswertung einer Eintrefferkurve $N/N_0 = \exp(-p \cdot \tau \cdot D)$ bezüglich des Treffbereichs τ nicht ohne weiteres möglich war, so erscheint es vorerst aussichtslos, aus experimentell gefundenen Dosiseffektkurven, bei denen $v = f(D, t) \cdot \tau$ ist, auch nur auf die Trefferzahl n zu schließen.

Mit dieser Feststellung sind selbstverständlich weder die Grundvorstellungen der früheren Analysen (statistische Natur der Verteilung von Absorptionsereignissen: „Trefferprinzip“ und funktionelle und mikrogeometrische Heterogenität der Zellstruktur: „Treffbereichshypothese“) noch etwa deren mathematischer Apparat als falsch erkannt. Diese sind unverändert richtig, und es

bleibt die dringende Notwendigkeit, jüngere Forscher sehr eingehend und sorgfältig mit Grundgedanken, Methoden und besonders mit den Grenzen der Anwendbarkeit der statistischen Hypothesen vertraut zu machen, da diese sonst, wie Unterrichtserfahrung und Literatur zeigen, immer wieder und meist mit den primitivsten Fehlern der Anfangszeit „neu erfunden“ werden.

Wenn, wie oben gezeigt, durch die neueren Befunde die statistischen Hypothesen in ihrer Anwendbarkeit so eingeschränkt wurden, daß ihnen vorerst kaum mehr als historisches Interesse zukommt, so waren diese Arbeiten nicht etwa nutzlos. In seinem Nachwort zu dem sehr lesenswerten Buch von N. V. Korogodin „Probleme der Wiederherstellung nach Bestrahlung“ (1966) charakterisiert N. W. Timoféeff-Ressovsky mit bemerkenswerter Klarheit die fortwirkende Bedeutung früherer strahlenbiologischer Arbeiten: „Die Entwicklung unserer Vorstellungen über die Natur dieser oder jener Erscheinung verläuft gewöhnlich auf dem Wege der Aufstellung von Hypothesen. Jede Hypothese stellt ein Schema des Wesens der entsprechenden Erscheinungen dar, das auf dem beruht, was wir über die fragliche Erscheinung schon wissen, und das die Lücken unseres Wissens mit logischen Schlüssen ausfüllt. Deshalb ist jede echt wissenschaftliche Hypothese ebenso richtig wie unrichtig, und ihr Wert bestimmt sich nicht nur aus ihrer Lebensdauer (die in unserer Zeit nach Jahren, wenn nicht nach Monaten zu messen ist), sondern auch nach ihrer heuristischen Bedeutung, das ist ihre Eignung, durch Vorhersage unbekannter Seiten der zu untersuchenden Erscheinung Experimente zur Prüfung zu planen. Die Resultate solcher Experimente sind um so wichtiger, je mehr Neues, Unvorhergesehenes bezüglich der zu untersuchenden Erscheinung gefunden wird, denn nur neue Information erlaubt es uns, die Grenzen der Ausgangshypothese genauer zu zeichnen oder zu erweitern, beziehungsweise zwingt uns, die Hypothese in entsprechender Weise abzuändern, manchmal auch von Grund auf umzuarbeiten. Wenn irgend eine Hypothese es erlaubt hat, Experimente zu planen, deren Ergebnisse zur Notwendigkeit ihrer grundlegenden Überarbeitung führten, so hat sie ihre Rolle gespielt, indem sie auf die Anhebung unseres Wissens auf ein höheres Niveau hinwirkte. Das heißt, sie ist nicht ‚ruhlos gestorben‘, sondern hat eine entsprechende Entwicklung durchgemacht.“

Die wesentlichen Züge dieser Entwicklung wurden im vorhergehenden schon kurz angedeutet, sollen aber im folgenden Abschnitt im Hinblick auf einige jetzt besonders interessierende Probleme deutlicher herausgearbeitet werden. Dabei wird auch klar, daß von einer Nichtaktualität der Strahlenbiologie keinesfalls die Rede sein kann. Im Gegenteil, gerade die Weiterentwicklung früherer Analysen hat gezeigt, daß hier theoretisch sehr wichtige und praktisch höchst aktuelle Aufgaben zu lösen sind.

2. Aufgaben der „molekularen“ Strahlenbiologie

Mit dem Ziel der Überwindung der beiden oben genannten Vereinfachungen beziehungsweise Begrenzungen der theoretischen und experimentellen Analyse quantitativ erfaßbarer strahlenbiologischer Reaktionen fanden natürlich eintretende Restitutionsvorgänge (z. B. Wirtszellenreaktivierung bei Bakteriophagen) wie auch künstlich induzierte Beeinflussungen des Reaktionsablaufs (z. B. Photoreaktivierung bei Bakterien, Sauerstoffeffekt, Strahlenschutzstoffe) in den letzten Jahren großes Interesse. An welche Fülle von Möglichkeiten bei Untersuchungen dieser Art zu denken ist, zeigt eindrucksvoll die von Korogodin

Tabelle 1.

Schema der Entwicklung des Strahlenschadens von Zellen vom Moment der Verwirklichung von Treffereignissen bis zur Manifestation einer "Einheit der Reaktion"

Aus V.I. Korotadin: "Problemy Postradiatsionnogo Vostanovleniya" Atomizdat, Moskva 1966

Entwicklungsphasen des Strahlenschadens	Reaktionstyp	Modifizierende Faktoren
<p>Treffereignisse (Energieabsorption im "empfindlichen Volumen")</p>	<p>Verschiedene Formen der Energiewanderung: physikalische, physikochemische, Diffusion von Radikalen und andere</p>	<p>LET, Zeitfaktor, Anwesenheit von Sauerstoff und chemischen Strahlenschutzmitteln, Temperatur, Phasenzustand</p>
<p>↓</p> <p>Primärschädigung der "reagierenden Einheiten"</p>	<p>Physikochemische oder chemische Prozesse der "Schadensentwicklung" oder "Reversion" teilweise geschädigter elementarer Strukturen</p>	<p>Temperatur, Sauerstoff, Wasser, verschiedene chemische Agentien</p>
<p>↓</p> <p>Potentielle Schäden</p>	<p>Abänderung spezifischer biochemischer Prozesse, im Zusammenhang mit geschädigten elementaren Strukturen (Biosynthese von Eiweißen? Nucleinsäuren? Übermolekularen Strukturen?)</p>	<p>Intensivierung oder Dämpfung des Energiestoffwechsels, Hemmung oder Beschleunigung der Zellteilung und anderer Faktoren, die auf die Wiederherstellung einwirken</p>
<p>↓</p> <p>Realisierung potentieller Schäden</p>	<p>Abänderung, unspezifischer biochemischer Prozesse, die zu Störungen im mikro- und makroskopischen Niveau führen</p>	<p>Vorliegen - im Substrat - von Faktoren, die Störungen kompensieren: Vitamine, Aminosäuren; "Kompensations-Therapie"</p>
<p>↓</p> <p>Registrierbare "Einheit der Reaktion" (Manifestation potentieller Schäden)</p>		

in Zusammenfassung seiner oben bereits erwähnten Monographie angegebene Tabelle 1. Es hat auch nicht an Bemühungen gefehlt, die bereits viel früher gemachten Ansätze zu einer mathematischen Behandlung des Problems über die formale Beschreibung hinausgehend zu einem nützlichen Werkzeug für weitere Analysen zu entwickeln. Die Möglichkeiten hierzu erscheinen bei der Vielzahl der zu berücksichtigenden Parameter (s. Tab. 1) sehr gering, so daß selbst bei Benützung modernster Rechenhilfen (Computer) auch die neuesten Versuche nur zu möglichen Interpretationen gefundener Ergebnisse führen (Haynes, 1966). Ganz ähnlich war das Ergebnis bereits bei den älteren Ansätzen (z. B. Swann u. del Rosario, 1931; Lea, 1938), die daher im Rahmen der Bücher von Lea (1946) und von Timoféeff-Ressovsky und Zimmer (1947) zwar dargestellt wurden, aber nicht in den Kreis der Überlegungen einbezogen werden konnten, die zu Verallgemeinerungen eines Erklärungsversuchs (und keineswegs nur zu einer Beschreibung) führen sollten.

Viel weniger Interesse fand in den letzten Jahren die zweite Begrenzung der vor etwa 20 Jahren durchgeführten Analysen, das ist die Beschränkung auf die Aussage, daß sich an den Eintritt einer Ionisation physikochemische Reaktionen als erste Glieder der zum beobachtbaren Effekt führenden Reaktionskette anschließen. In diesem Zusammenhang wird z. B. im Rahmen eines Einleitungs-vortrages zu einem Symposium ausgeführt: „Die Frage, wie strukturelle Defekte unter verschiedenen Bestrahlungsbedingungen in Makromolekülen (DNS) durch die schnellen physikochemischen Reaktionen entstehen, die auf die Absorptionsvorgänge folgen, wird im einzelnen nicht betrachtet, und es scheint, als ob das Aufzeigen und Identifizieren der verschiedenen Arten stabiler in der DNS gebildeter Defekte zum Verständnis der hier zur Diskussion stehenden biologischen Probleme genügt“ (Haynes, 1966).

Gegen eine solche einschränkende Betrachtungsweise gibt es zwei Einwände. Erstens sind vom theoretischen Standpunkt die physikochemischen Anfangsglieder der Reaktionskette ebenso interessant wie die späteren biochemischen und biologischen. Und zweitens hat gerade das Studium der Restitutions- und Beeinflussungsvorgänge, von dem oben die Rede war, nicht nur gezeigt, daß eine außerordentliche Fülle von Möglichkeiten vorliegt, sondern auch, daß von Art zu Art der untersuchten Lebewesen ganz verschiedene der vielen Möglichkeiten und in ganz unterschiedlichem Maße realisiert werden. Das bedeutet aber, daß eine eingehende Analyse gerade der ersten Reaktionsschritte, für die bei Ausdehnung der Betrachtung auf die Summe aller Arten interessierender Lebewesen doch viel weniger zahlreiche Möglichkeiten der Reaktion bestehen, voraussichtlich leichter zur Auffindung von allgemeingültigen Gesetzmäßigkeiten führen wird. Diese aber brauchen wir für alle praktischen Ziele (sei es nun Mutationsauslösung für die Züchtung, Wirkungsminderung für den Strahlenschutz oder Wirkungssteigerung für Strahlentherapie oder Desinfektion), das heißt, um mit der Strahlung ungefährdet zu leben, wie auch, um aus ihr den größtmöglichen Nutzen zu ziehen.

Unter den vielen Aufgaben moderner strahlenbiologischer Forschung (eine sehr interessante Zusammenstellung enthält die oben bereits erwähnte Einführung zum Lehrbuch von *Kuzin* und *Shapiro*) wird daher neben der intensiven Fortsetzung der Arbeiten über Regenerations- und Beeinflussungsvorgänge bei den späteren Gliedern der Reaktionskette eine sorgfältige und eingehende experimentelle und theoretische Untersuchung gerade auch der ersten Reaktionsschritte auf physikochemischem Niveau keinesfalls vernachlässigt werden dürfen. Von einigen Untersuchungen zu diesem Problemkreis und von deren Ergebnissen soll in den folgenden Abschnitten die Rede sein. Beide Arbeitsrichtungen, das ist also die Untersuchung der Regenerations- und Beeinflussungsvorgänge wie auch die der physikochemischen Reaktionsschritte, bedienen sich heute vorzugsweise der gleichen biologischen Objekte und Methoden, wie sie in der sogenannten Molekularbiologie oft verwendet werden, und können daher als „molekulare“ Strahlenbiologie bezeichnet werden.

3. Bedeutung der Radikalreaktionen

Es ist hier nicht der Ort, um einen Gesamtüberblick über die Untersuchungen zur Aufklärung der ersten an die Absorption von Strahlung in biologischem Material anschließenden physikochemischen Reaktionen zu geben. Wir wollen vielmehr über einige neuere Arbeiten berichten, die an Bakteriophagen und deren isolierter Desoxyribonukleinsäure (DNS) durchgeführt wurden, wobei meist sorgfältig gefriergetrocknetes Material zur Bestrahlung kam. Es ist ja einer der vielen Vorzüge des Arbeitens mit Phagen und deren DNS, daß man sich mit diesen Objekten von den Komplikationen der Strahlenchemie des Wassers weitgehend freimachen, daß man weiter die gefriergetrockneten Materialien unter extremen Bedingungen, z. B. im Hochvakuum und bei tiefen Temperaturen bis hinab zu denen des flüssigen Heliums, bestrahlen und doch nachher die biologischen Funktionen wie Adsorption an Bakterien und vor allem Vermehrungsfähigkeit ohne besondere Schwierigkeit testen kann. Außer ganzen Phagen und deren DNS kamen auch bestimmte Enzyme, ebenfalls in gefriergetrockneter Form, zur Bestrahlung und anschließenden Prüfung ihrer Funktion. Als Strahlenquellen für die Versuche, die, wie erwähnt, bei verschiedenen Temperaturen

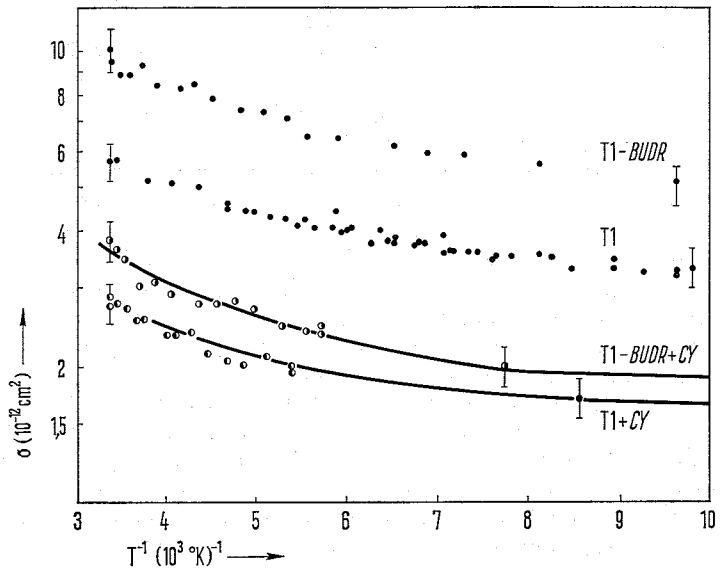


Abb. 1. Temperaturabhängigkeit des Wirkungsquerschnittes der Inaktivierung von T1-Bakteriophagen durch 2 MeV-Protonen für normale und bromuracilsubstituierte Phagen mit und ohne Zusatz von Strahlenschutzstoffen. (Nach K. O. Hermann, 1966).

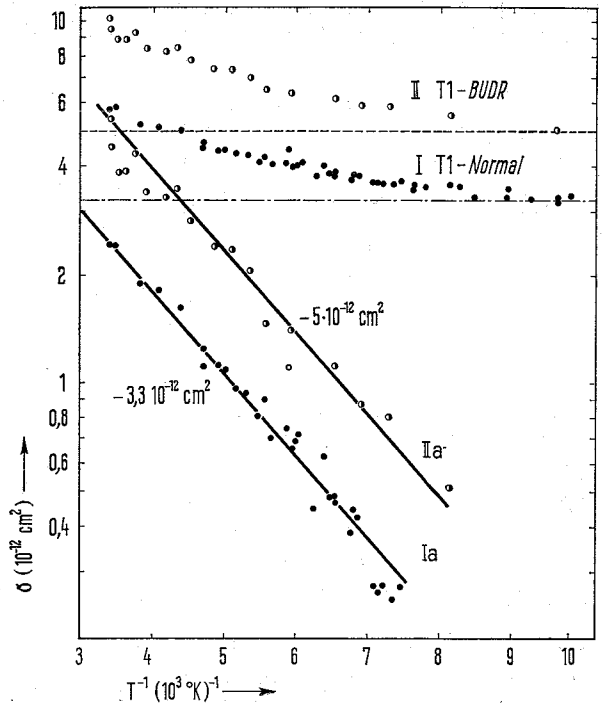


Abb. 2. Zerlegung der Temperaturabhängigkeit des Inaktivierungsquerschnittes für T1-Phagen in zwei Komponenten. (Nach K. O. Hermann, 1966).

von Zimmertemperatur abwärts ausgeführt wurden, dienten eine Co- γ -Quelle von etwa 20 000 Ci sowie Photonen und auch Deuteronen, beschleunigt in einem 2 MeV-van de Graaff-Gerät.

Es besteht kein Anlaß, uns hier mit den technischen Einzelheiten der Experimente aufzuhalten. Es ist auch nicht beabsichtigt, die Ergebnisse in Form von LET-RBE-Studien oder einer Analyse mit den Hilfsmitteln der Treffbereichshypothese eingehend zu diskutieren, denn davon sind besondere neue Erkenntnisse vorerst nicht zu erwarten. Immerhin scheint es lohnend, auf folgendes hinzuweisen. Auch ein Vergleich der Wirkungen von Strahlungen verschiedenen linearen Energie-Transfers auf die Phagen Φ X-174 und T1 liefert deutliche Hinweise auf die wohl zuerst von *Guild* (1963) betonte Tatsache, daß etwa 90% der durch ionisierende Strahlung in Zweistrang-DNS erzeugten Schäden später eliminiert oder repariert werden können (*Günther* u. *Hermann*, 1967). Besonders aber soll ein anderer höchst bemerkenswerter Befund der Temperaturversuche hervorgehoben werden. Beim Auftragen (im logarithmischen Maßstab) der Inaktivierungsdosis D_{37} für Gammastrahlung oder des Inaktivierungsquerschnitts σ für schnelle Protonen über der reziproken Temperatur während der Bestrahlung erhält man im allgemeinen Kurven der in Abbildung 1 für T1-Phagen dargestellten Art, die von höheren Temperaturen her zunächst einen Abfall zeigen, dann bei tieferen Temperaturen aber deutlich umbiegen und parallel zur Abszisse verlaufen. Die naheliegende Zerlegung solcher Kurven in mehrere Komponenten läßt sich meist gut durchführen und ergibt bei sehr tiefen Temperaturen einen konstanten Anteil S_0 des Wirkungsquerschnitts (bzw. der D_{37}) und bei Temperaturen zwischen denen des flüssigen Stickstoffs und etwa 20°C einen zweiten Anteil S_1 , der temperaturabhängig ist. Wie aus Abbildung 2 zu ersehen ist, sind die Kurven für S_1 im halblogarithmischen Raster Gerade

Tabelle 2. Nach W. *Günther* und H. *Jung*, 1967.

Temperaturabhängigkeit der Inaktivierung: $S = S_0 \cdot e^{-E_0/RT} + S_1 \cdot e^{-E_1/RT} + S_2 \cdot e^{-E_2/RT}$					
Objekt	Strahlung	Aktivierungsenergie kcal/Mol			Autor
		E_0	E_1	E_2	
Φ X-174 Vak.	2 MeV-p	0	1	$a^{*)}$	H. GÜNTHER + HERMANN, 1967
Φ X-174 + CSSC [†]) Vak.	2 MeV-p	0	1	a	" "
T1 Vak.	2 MeV-p	0	1	a	HERMANN, 1966
T1 + CSSC [†]) Vak.	2 MeV-p	0	1	a	" "
BU-T1 Vak.	2 MeV-p	0	1	a	" "
BU-T1 + CSSC [†]) Vak.	2 MeV-p	0	1	a	" "
B. megat. Sporen Hé	50 keV _p X	0	1	a	WEBB, EHRET + POWERS, 1958
RNase Vak.	Co- γ	$b^{*)}$	1	a	W. GÜNTHER + JUNG, 1967
RNase O ₂	Co- γ	b	1	a	" "
RNase Vak.	2 MeV-p	0	1,1	7,5	" "
RNase Vak.	2 MeV-d	0	1,1	a	" "
Trypsin Vak.	330 MeV-Ar	0	1	3	BRUSTAD, 1964
RNase Vak.	1,4 keV-p	0	b	a	JUNG, 1964

*) a : nicht untersucht, b : untersucht, Komponente fehlt [†]) CSSC: Cystamin

Tabelle 3. Nach K. G. Zimmer und A. Müller, 1965.

<i>Material Bestrahlung (Co-60 γ) und Messung im Vakuum bei 300°K</i>	<i>Radikalausbeute pro 100 eV Energieabsorption</i>
<i>Zucker</i> D2-Deoxyribose	4
<i>Basen</i> Adenin Thymin Cytosin Guanin	0,1 0,1 0,4 1
<i>Nukleoside</i> Deoxyadenosin Thymidin Deoxycytidin Deoxyguanosin	1 0,4 1 1
<i>Nukleotide</i> Deoxyadenosin monophosphat Thymidin " Deoxycytidin " Deoxyguanosin "	2 2 5 4
DNS aus T2	3-5
Ganze Phagen T2	2-4

und ermöglichen nach *Arrhenius* die Berechnung einer Aktivierungsenergie. Bei Temperaturen über 20°C wurde in einigen daraufhin untersuchten Fällen noch eine dritte Komponente S_2 gefunden, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Die Ergebnisse so durchgeführter Analysen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt (*Günther u. Hermann, 1967; Günther u. Jung, 1967; Hermann, 1966*). Alle Objekte weisen bei Inaktivierung mit ionisierender Strahlung im mittleren Temperaturbereich einheitlich eine Aktivierungsenergie von etwa 1 kcal/Mol auf. So geringe Aktivierungsenergien kommen bei „normalen“ chemischen Reaktionen nicht vor, werden aber bei Radikalreaktionen beobachtet.

Daher können wir die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche mit ionisierenden Strahlen bei verschiedener Temperatur als Hinweis dafür ansehen, daß die an die Ionisationsprozesse sich anschließenden Vorgänge zu einem erheblichen, von der Temperatur abhängigen Anteil (S_1) in Radikalreaktionen bestehen. Bei Verwendung von Strahlung, die ihre Energie nicht bevorzugt durch Ionisationen, sondern durch elastische Kernstöße auf das bestrahlte Material überträgt, fehlt die temperaturabhängige Komponente S_1 (s. letzte Zeile der Tab. 2). Von den elastischen Kernstößen wird in einem späteren Abschnitt noch ausführlicher

die Rede sein. Hier interessiert zunächst der Hinweis auf das Vorliegen von Radikalreaktionen als Folge von Ionisationen.

Über die Bildung freier Radikale bei Bestrahlung biologischen Materials mit ionisierender Strahlung sind wir durch umfangreiche Untersuchungen mit der Methode der Elektronenspinresonanz unterrichtet, die ja eines der wenigen bisher verwendbaren Untersuchungsverfahren darstellt, mit dessen Hilfe man Aufschluß über die strahleninduzierten physikochemischen Prozesse in vivo erhalten kann (Zimmer, 1961). Die von Zimmer und Müller (1965) zusammengefaßten Ergebnisse eigener und fremder Arbeiten zeigen deutlich, daß in allen Materialien freie Spins proportional zur Dosis und mit hoher Ausbeute gebildet werden. Indem wir uns hier wieder auf die Betrachtung der Ergebnisse an Phagen, Nukleinsäuren und deren Bestandteilen beschränken, ergibt sich aus der Tabelle 4, daß die Inaktivierungsdosen je nach den Versuchsbedingungen zwischen 300 und 8000 eV pro Phage (Volumen $\cong 10^{-16} \text{ cm}^3$) liegen (Hotz u. Zimmer, 1963), für die Bildung eines nachweisbaren freien Spins pro Phagen aber nur 20 bis 30 eV erforderlich sind (Tab. 3, Zimmer u. Müller, 1965). Das heißt, bei der Inaktivierungsdosis wären etwa 20 bis 300 Radikale meßbar. Wenn damit die quantitative Seite des Problems dahin geklärt ist, daß sicher bei Bestrahlung genügend Radikale gebildet werden, um diese als wichtige Zwischenstufe zwischen Ionisation und beobachtbarem biologischem Effekt ansehen zu können, so werden sofort auch zwei weitere Fragen erkennbar. Erstens ist zu untersuchen, welche Arten von freien Radikalen entstehen, und zweitens muß die Aufstellung eines Reaktionsschemas und einer Stoffbilanz für deren Bildung und weitere Reaktionen angestrebt werden.

Tabelle 4. Nach G. Hotz und K. G. Zimmer, 1963.

Bestrahlung: Co-60 Quelle		D_{37} krad	Faktoren p des Schutzes oder s der Sensibilisierung
Material	Bedingungen		
T1, H ₂ O, NB	Luff 300 °K	95	
T1, NB	Vak. 300 °K	410	
T1, NB	Vak. 80 °K	950	
T1, H ₂ O, NB, GSH ^{*)}	Luff 300 °K	310	
T1, NB, GSH	Vak. 300 °K	750	
T1, NB, GSH	Vak. 80 °K	1560	
BU-T1, H ₂ O, NB	Luff 300 °K	55	
BU-T1, NB	Vak. 300 °K	180	
BU-T1, NB	Vak. 80 °K	510	
BU-T1, H ₂ O, NB, GSH	Luff 300 °K	300	
BU T1, NB, GSH	Vak. 300 °K	360	
BU T1, NB, GSH	Vak. 80 °K	900	

^{*)} 1µg T1, 1g H₂O, 40mg NB, 10mg GSH

^{**)} D_{37} : ~300 bis 8000 eV per 10^{-16} cm^3

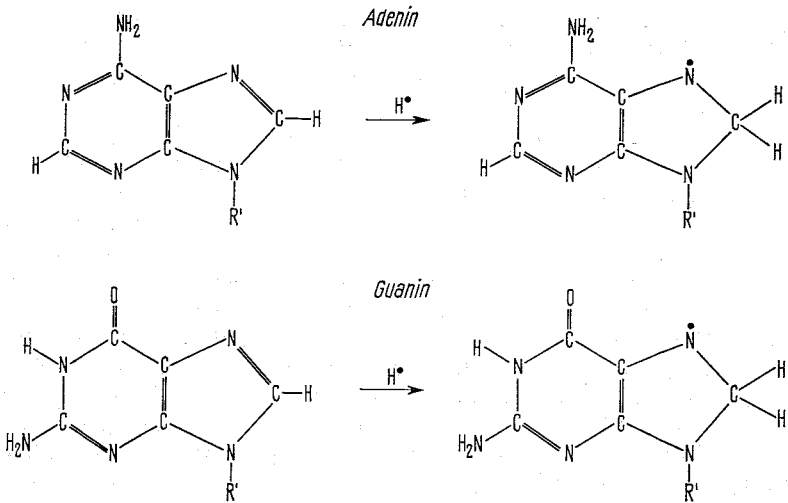


Abb. 3. Nach H. Dertinger, 1967.

Bezüglich der qualitativen Untersuchungen über die Art der gebildeten Radikale ist zu beachten, daß Radikale im allgemeinen nur in Paaren entstehen können. Auf diesen in der Strahlenbiologie bisher sehr wenig beachteten Umstand (*Kirby-Smith* u. *Randolph*, 1961) kommen wir noch zurück. Die Versuche zur Feststellung der Art der gebildeten Radikale erfolgen am besten ebenso wie die quantitativen Messungen ihrer Konzentration mit der ESR-Methode. Bei der Kompliziertheit des Aufbaus der DNS-Moleküle, die uns naturgemäß am meisten interessieren, waren wesentliche Aussagen erst möglich, als es gelang, Einkristalle einer ganzen Reihe von Bausteinen der DNS zu züchten und nach Be-

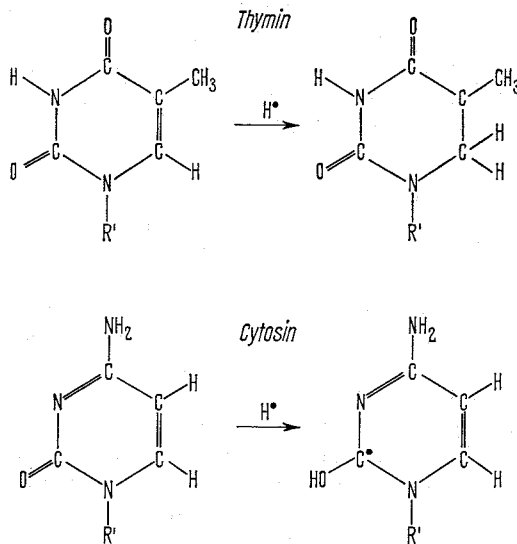


Abb. 4. Nach H. Dertinger, 1967.

strahlung deren paramagnetische Resonanzspektren in Abhängigkeit von der Orientierung des Magnetfeldes zu den Kristallachsen aufzunehmen. Dabei erwies es sich zur Erhöhung der Meßgenauigkeit als zweckmäßig, nicht in dem sonst meist verwendeten 30 mm-Band, sondern vielmehr bei 8 mm zu arbeiten. Mittels der von *Dertinger* (1967) in unserem Institut erarbeiteten Kristallisations- und Meßverfahren ließ sich zeigen, daß in Adenosin, Guanosin und Cytosin im einzelnen verschiedene Radikale gebildet werden, diese aber, ebenso wie früher von *Pruden*, *Snipes* und *Gordy* (1965) für Thymidin nachgewiesen, in erheblichem Maße durch Anlagerung von atomarem Wasserstoff entstehen (Abb. 3 u. 4). Nun ist aus der Strahlenchemie organischer Verbindungen bekannt, daß die Abspaltung von Wasserstoff eine sehr häufige Primärreaktion darstellt (*Blyumenfel'd*, *Voevodskii* u. *Semenov*, 1962). Der so gebildete atomare Wasserstoff, der ja ebenfalls ein Radikal ist, kann bei geeigneter Versuchsdurchführung auch in Phagen und deren DNS durch Spin-Resonanz nachgewiesen werden (*Müller* u. *Dertinger*, 1967). Er stellt damit ganz offenbar einen wesentlichen und oft nicht berücksichtigten Teil des primär entstehenden Radikalpaares dar. Dabei ist der atomare Wasserstoff für den weiteren Reaktionsablauf ein sehr wichtiger Teil des Radikalpaares wegen seiner hohen Reaktionsfähigkeit wie auch infolge seines guten Diffusionsvermögens, das z. B. auch bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs noch erheblich ist.

Da wir aus den eben erwähnten Untersuchungen an Einkristallen gesehen haben, daß z. B. in Nukleinsäurebausteinen Wasserstoffanlagerungen in erheblichem Maße zur Radikalbildung beitragen, müssen wir die Bildung atomaren Wasserstoffs und seine Reaktionen als bedeutsame Folgereaktion der Ionisation ansehen. Diese Ansicht läßt sich direkt experimentell prüfen und erhärten. Im Rahmen ihrer eingehenden Untersuchungen zur Inaktivierung des Ferments Ribonuklease durch Strahlungen konnten *Jung* und *Schüßler* (1966, 1967) nachweisen, daß trockene Ribonuklease durch Behandlung mit atomarem Wasserstoff, den man mittels einer Hochfrequenz-Gasentladung einfach herstellen kann, inaktiviert wird. Darüber hinaus ließ sich in Übereinstimmung mit Versuchen an wäßrigen Lösungen (*Holmes*, *Navon* u. *Stein*, 1967) zeigen, daß die Inaktivierung der Ribonuklease durch atomaren Wasserstoff in gleicher, wenn auch noch keineswegs vollständig aufgeklärter Weise erfolgt wie durch ionisierende Strahlung.

Daß sich aus diesen Befunden eine Reihe höchst interessanter weiterer Probleme ergibt, bedarf wohl nicht einmal für diejenigen der Erwähnung, die der Ansicht von der Nichtaktualität der Strahlenbiologie zuneigen. Auf die Notwendigkeit der Aufstellung von Reaktionsschemen und Stoffbilanzen für die Bildung und weiteren Reaktionen der freien Radikale wurde oben schon hingewiesen und erwähnt, daß atomarer Wasserstoff auch im Festkörper bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs noch ein erhebliches Diffusions- und Reaktionsvermögen aufweist. Da nun die Durchführung schneller Elektron-Spin-Resonanzmessungen bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit und während der Bestrahlung technisch sehr schwierig, wenn nicht unmöglich ist, wird es nötig sein, die Bestrahlungen und ersten Messungen bei der Temperatur des flüssigen Heliums durchzuführen und dann bei langsamem Anwärmen den weiteren Reaktionsverlauf qualitativ und quantitativ messend zu verfolgen. Eine andere, sehr aktuelle Fragestellung bilden Prüfung und weiterer Ausbau eines von

Braams (1963) vorgeschlagenen Reaktionsschemas, nach dem die Wirkung gewisser „Strahlenschutzstoffe“ als auf ihrer Reaktion mit atomarem Wasserstoff beruhend angenommen wurde.

An dieser Stelle darf nicht unerwähnt bleiben, daß es außer den eben etwas ausführlicher diskutierten, durch ionisierende Strahlung ausgelösten Radikalreaktionen selbst bei Beschränkung der Betrachtung auf biologische Objekte im festen Zustand noch eine Reihe anderer physikochemischer Prozesse gibt, deren weitere Untersuchung höchst aktuelle Probleme bietet. So erscheint uns das Übergangsgebiet zwischen Anregung und Ionisation, also das Vakuum-Ultraviolett, strahlenbiologisch noch keineswegs genügend erforscht. Leider kann diesbezüglich hier noch nicht über Ergebnisse berichtet werden, da der Bau eines leistungsfähigen Monochromators für das genannte Wellenlängengebiet gerade erst abgeschlossen wurde. Ein anderes Aufgabengebiet dagegen haben wir bereits kurz gestreift: die biologische Wirkung elastischer Kernstöße. Hier handelt es sich um langsame Teilchenstrahlung, bei der die Energieübertragung überwiegend nicht durch Ionisation, sondern durch elastische Stöße mit Atomkernen erfolgt. Dabei treten, wie zu erwarten, ganz andere Reaktionen auf als bei Ionisation. Diese Vorgänge wurden bisher im biologischen Bereich nur am Ferment Ribonuklease untersucht (*Jung*, 1965, 1966; *Jung* u. *Zimmer*, 1966) und gezeigt, daß die Inaktivierung der Ribonuklease mit größerer Energieausbeute erfolgt als durch Ionisation und daß die Inaktivierung durch elastische Kernstöße im Gegensatz zu der durch Ionisation weder von der Temperatur abhängt, noch durch Cysteaminzusatz zu vermindern ist. Hier sind offensichtlich weitere Arbeiten an anderen Objekten, insbesondere Nucleinsäuren, von großem Interesse.

4. *Schlußfolgerungen*

Wie bereits bemerkt, war es nicht unser Ziel, hier eine Gesamtübersicht über die physikochemischen Reaktionen zu geben, die sich an die Absorption von Strahlungsenergie in biologischen Materialien anschließen. Wir wollten vielmehr an einigen neueren Arbeiten, die auch zum Thema der Tagung passen, auf aktuelle Aufgaben und Probleme hinweisen, mit deren Lösung sich die molekulare Strahlenbiologie beschäftigt. Dabei möchten wir nochmals nachdrücklich betonen, daß zu den Aufgaben und Problemen neben der Untersuchung der physikochemischen Reaktionen, von denen hier besonders die Rede war, auch die experimentelle und theoretische Analyse der an diese anschließenden biochemischen und biologischen Reaktionen gehört.

Wenn damit die gelegentlich gehörte Ansicht von der Nichtaktualität der Strahlenbiologie, wie wir glauben, vom Sachlichen her als unrichtig erwiesen ist, so genügt das allein weder zum Verständnis ihres Zustandekommens noch zu ihrer Überwindung. Im Hinblick darauf sollte man unseres Erachtens in Zukunft vermeiden, die medizinische und die naturwissenschaftlich orientierte Strahlenbiologie, die sogenannte Isotopenforschung, die medizinische Radiologie und die Nuklearmedizin zu einem homogenen und damit farblosen Brei zu verühren. Man wird die Aktualität *jedes* dieser Gebiete überzeugender aufzeigen können, wenn man sie deutlich getrennt hält. Bei klarer Definition und Abgrenzung von Aufgaben, geistigem Inhalt, Methodik und Ziel jedes einzelnen Fachgebiets wird dessen Förderung nach unseren Erfahrungen viel einfacher zu

erreichen sein als bei einer dem Fernerstehenden nicht verständlich zu machen- den Vermengung, die, aus der historischen Entwicklung entstanden, heute keinen rechten Sinn mehr hat.

Andererseits sind selbstverständlich Diskussionen zwischen Vertretern der genannten Gebiete und gegenseitige Anregung unerlässlich zur Lösung mancher sehr aktueller Aufgaben. Auch hier gibt es ein Beispiel, das speziell in den Rahmen des heutigen Themas gehört. Der eventuelle praktische Wert einer Strahlentherapie mit schnellen Neutronen wird nur in gemeinsamer Anstrengung von Theoretikern und Klinikern festgestellt werden können (Easson, 1967), da es sich hier um ein Problem handelt, zu dessen Klärung sowohl Fragen der medizinischen und klinischen Forschung wie auch der molekularen Strahlenbiologie gelöst werden müssen. Eine Chance für Verbesserung von strahlentherapeutischen Verfahren durch Anwendung schneller Neutronen könnte in der geringeren Sauerstoffabhängigkeit ihrer Wirkung liegen. Dieses Phänomen weiter zu untersuchen, ist offensichtlich eine Aufgabe der molekularen Strahlenbiologie, die dadurch wesentliche Voraussetzungen für erfolgreiche medizinisch-klinische Untersuchungen schaffen kann.

Wenn wir abschließend die bereits oben kurz gestreiften praktischen Ziele etwas eingehender betrachten, müssen wir davon ausgehen, daß eine vollständige Kenntnis der Strahlenwirkung auf das Erbgut nach dem heutigen Stand unseres Wissens nur auf molekularer Ebene mit Aussicht auf Erfolg gesucht werden kann. Strahlensterilisierung von Lebensmitteln oder Geräten bedeutet Verhinderung der Fortpflanzung unerwünschter Lebewesen, das heißt absichtliche Beschädigung von deren Erbgut, die bei genauerer Kenntnis der dabei ablaufenden molekularen Mechanismen sicher mit geringerem technischem Aufwand und daher billiger als bisher durchzuführen wäre. Erzeugung neuer Sorten von Kulturpflanzen bedeutet ebenfalls absichtliche Beeinflussung von deren Erbmaterial. Auch sie wird ebenso wie die Vermeidung von Erbschädigungen durch Strahlung und die angestrebte Entwicklung von Heilmitteln auf diesem Gebiet durch genauere Kenntnis des molekularen strahlenbiologischen Geschehens zweifellos sehr erleichtert werden.

Zusammenfassung

An Hand von Beispielen aktueller Probleme wird auf die theoretische Bedeutung des Forschungsgebiets der molekularen Strahlenbiologie hingewiesen und deren Wichtigkeit für die Lösung dringender praktischer Aufgaben erläutert.

Summary

A discussion of recent work in the field of molecular radiation biology serves to demonstrate its inherent theoretical interest as well as its importance for the solution of urgent practical problems.

Résumé

On discute quelques travaux récents concernant la radiobiologie moléculaire pour démontrer son intérêt théorique ainsi que son importance pour la solution de problèmes pratiques urgents.

Schrifttum

Blyumenfel'd, L. A., V. V. Voevodskii, A. G. Semenov: Primenenie élektronnogo paramagnitnogo rezonansa v khimii. Anwendung der Elektronen-Spin-Resonanz in der Chemie. Izdatel'stvo Sibirskogo otdelniya AN. Novosibirsk 1962. — Braams, R.:

Nature 200 (1963), 752. — *Brustad, T.*: in: Biological Effects of Neutron and Proton Irradiations II, S. 404. Internat. Atomic Energy Agency. Wien 1964. — *Dertinger, H.*: Z. Naturforsch. 22 b (1967), im Druck. — *Easson, E. C.*: in: *M. Ebert, A. Howard*, Eds., Current Topics in Radiation Research 3, S. 175. Amsterdam 1967. — *Günther, H. H., K. O. Hermann*: Z. Naturforsch. 22 b (1967), 53. — *Günther, W., H. Jung*: ebda. 22 b (1967), 313. — *Guild, W. R.*: in: *R. N. Feinsein*, Ed., Implication of Organic Peroxides in Radiobiology. Radiat. Res. Suppl. 3 (1963), 257. — *Haynes, R. H.*: in: *R. H. Haynes, S. Wolff, J. Till*, Eds., Structural Defects in DNA and their Repair in Microorganisms. Radiat. Res. Suppl. 6 (1966), 1. — *Hermann, K. O.*: Z. Naturforsch. 21 b (1966), 678. — *Holmes, B. E., G. Navon, G. Stein*: Nature 213 (1967), 1087. — *Hotz, G., K. G. Zimmer*: Int. J. Radiat. Biol. 7 (1963), 75. — *Jung, H.*: Z. Naturforsch. 20 b (1965), 764; 21 b (1966), 1165. — *Jung, H., H. Schüßler*: ebda. 21 b (1966), 224. — *Jung, H., K. G. Zimmer*: in: *M. Ebert, A. Howard*, Eds., Current Topics in Radiation Research 2, 69. Amsterdam 1966. — *Kirby-Smith, J. S., M. L. Randolph*: J. cell. comp. Physiol. 58 (1961), 1. — *Korogodin, V. I.*: Problemy postradiatsionnogo vosstanovleniya. Probleme der Wiederherstellung nach Bestrahlung. Nachwort von *N. W. Timoféeff-Ressovsky*. Moskau 1966. — *Kuzin, A. M., N. I. Shapiro*, Eds.: Osnovy radiatsionnoi biologii. Grundlagen der Strahlenbiologie. Moskau 1964. — *Lea, D. E.*: Brit. J. Radiol. 11 (1938), 489 u. 554; Actions of Radiations on Living Cells. Cambridge 1946. — *Müller, A., H. Dertinger*: Z. Naturforsch. 22 b (1967), im Druck. — *Pruden, B., W. Snipes, W. Gordy*: Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 53 (1965), 917. — *Schüßler, H., H. Jung*: Z. Naturforsch. 22 b (1967), im Druck. — *Swann, W. F. G., C. del Rosario*: J. Franklin Inst. 211 (1931), 303. — *Timoféeff-Ressovsky, N. W., K. G. Zimmer*: Biophysik I. Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig 1947. — *Webb, R. B., C. F. Ehret, E. L. Powers*: Experientia 14 (1958), 324. — *Zimmer, K. G.*: Studies on Quantitative Radiation Biology. Edinburgh — London 1961; Radiat. Res. 28 (1966), 830. — *Zimmer, K. G., A. Müller*: in: *M. Ebert and A. Howard*, Eds., Current Topics in Radiation Research 1, 1. Amsterdam 1965.

Anschrift d. Verf.: Prof. Dr. K. G. Zimmer, Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum, 75 Karlsruhe, Postfach 947.