

Aus dem Strahlenbiologischen Institut der Universität München und dem Institut für Strahlenschutzforschung der Gesellschaft für Kernforschung, Neuherberg

Zur Interpretation der Dosiswirkungsbeziehungen in der Strahlenbiologie*

Von

O. HUG und A. KELLERER

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. November 1962)

I. Allgemeiner Teil

Wie alle diskreten Zustandsänderungen lebender Systeme ist der Tod einzelner Zellen oder vielzelliger Organismen ein Ereignis, dem indeterministische Züge anhaften. Allein die Tatsache, daß nicht alle Individuen einer Population nach gleicher Lebensdauer oder nach gleicher Dosis eines schädigenden Agens sterben, weist auf die Beteiligung von Vorgängen stochastischer Natur an den Letalmechanismen hin. Die Annahme einer „biologischen Variabilität der Empfindlichkeit“ genügt nicht zur Erklärung der bekannten Zeit- oder Dosisbeziehungen vitaler Effekte. So würde z. B. eine exponentielle Dosiseffektkurve eine Exponentialfunktion als Häufigkeitsverteilung der Empfindlichkeit voraussetzen. Eine solche Verteilung eines Merkmals im Kollektiv aber ist nicht zu erwarten.

Spricht man aber von Variabilität der Empfindlichkeit, ohne sie auf ein essentielles Merkmal des Individuums zu beziehen, wie Alter, Größe, Entwicklungsstadium oder biochemische Besonderheiten, so verliert dieser Begriff seinen Sinn und ist nicht mehr als eine Umschreibung der Zufälligkeit im Eintreten des Effekts.

Über die Natur des stochastischen Ereignisses, das zum jeweiligen Beobachtungseffekt führt, und das wir im folgenden als „kritisches Ereignis“ bezeichnen wollen, kann allein auf Grund der Dosiswirkungsbeziehung noch nichts ausgesagt werden. Die vorliegende Arbeit soll — ausgehend von strahlenbiologischen Erfahrungen, aber mit dem Ziel, einen Beitrag zum allgemeinen Problem der Dosiswirkungsbeziehung zu leisten — zeigen, daß das kritische Ereignis, das bei Einwirkung der schädigenden Noxe zum Zelltod oder einer anderen diskreten zellulären Schädigung führt, nicht nur im spezifischen Wirkungsmechanismus des Agens, sondern auch in den besonderen Reaktionsweisen vitaler Systeme liegen kann.

Es war eine Wende in der Strahlenbiologie und zugleich eine Bereicherung der allgemeinen Biologie, als man in Anwendung quantenphysikalischer Vorstellungen erkannte, daß einzelne mikrophysikalische Ereignisse, wie die Absorption eines Quants oder die diskrete Energieabgabe schneller Teilchen in vitalen Systemen makrophysikalische Phänomene auslösen können. Die Treffertheorie,

* Herrn Professor Dr. H. LANGENDORFF zur 60. Feier seines Geburtstages gewidmet

eine Konsequenz dieser Erkenntnis, geht davon aus, daß die statistische Streuung strahleninduzierter Effekte auf die Häufigkeitsverteilung der primären Ereignisse der Energieabsorption (Quantenabsorption, Dessauers Punktwärme, Anregungen und Einzelionisationen, Ionisationsgruppen, Durchgänge dicht ionisierender Teilchen, Wirkungen einzelner freier Radikale oder strahlungskemischer Zwischenprodukte) in den Individuen der Population oder in besonderen Strukturelementen innerhalb jedes Individuums zurückzuführen ist. Sie nimmt also an, daß die Form der Dosiswirkungsbeziehung bereits durch die statistische Natur der Energieabsorption determiniert ist.

Mit dieser Vorstellung gelang es, zahlreiche Strahlenwirkungen aufzuklären. Sie ist auch heute, nachdem die klassische Treffertheorie auf Grund neuer Beobachtungen mancherlei Modifikationen erfahren hat, plausibel und zur Deutung von Wirkungskurven ausreichend, wenn immer die Struktur des bestrahlten Objektes und die Vorgänge der Energieabsorption eine derart ungleiche Verteilung der wirksamen Energie bedingen, daß sich die statistische Streuung des Effektes zwanglos daraus ableiten läßt. Dies ist der Fall bei der Einwirkung aller Arten ionisierender Strahlen auf Objekte molekularer und makromolekularer Größe, einschließlich mancher Virusarten und einschließlich gewisser genetischer Strukturelemente und auch bei Einwirkung dicht ionisierender Strahlen wie Alpha-Teilchen auf einzelne Zellen. Man darf aber nicht deshalb verallgemeinernd schließen, daß alle zellulären Strahlenwirkungen nach dem gleichen Prinzip ablaufen, und daß in allen Fällen die statistische Natur des Effektes zwangsläufig auf Zufallstreffern in einzelnen oder einigen hypothetischen Untereinheiten der Zelle beruht. Nur wenn sich auch innerhalb einer Zelle die „ultramikrometrisch“ ermittelten Treffbereiche zytologisch identifizieren lassen, sollte an der treffertheoretischen Konzeption festgehalten werden; in allen anderen Fällen sollte sie nur ein heuristisches Prinzip sein, das spätestens dann aufzugeben ist, wenn ihm biologische Einsichten entgegenstehen.

Einwände gegen eine Verallgemeinerung der Treffertheorie ergeben sich aus ihr selbst und auch aus einem Vergleich der Wirkung ionisierender Strahlen mit der anderer Noxen. Gerade die Begründer der Treffertheorie haben immer wieder auf die Grenzen ihrer Anwendbarkeit hingewiesen und betont, daß die Dosiswirkungsbeziehungen und ihre mathematische Beschreibung noch nichts über die Natur des Trefferereignisses aussagen (siehe [16, 21 bis 24]). Man kann noch weitergehen und sagen, daß die Dosiseffektkurven allein noch nicht einmal eine Entscheidung darüber erlauben, ob ihnen überhaupt Treffermechanismen zugrunde liegen. Trotzdem wird in der strahlenbiologischen Praxis auch für komplexe Strahleneffekte oft a priori die treffertheoretische Deutung gewählt und aus der Dosiswirkungsbeziehung die Zahl der Treffer oder der Treffbereiche abgelesen. Die neuere Entwicklung sowohl der Strahlenbiologie als auch der allgemeinen Zytologie hat keineswegs dazu ermutigt, die treffertheoretischen Überlegungen auf alle zellulären Strahlenwirkungen auszudehnen. Während bei der Strahlenwirkung auf Makromoleküle, Viren und genetische Strukturen (auch wenn sie intrazellulär bestrahlt werden) die ermittelten empfindlichen Volumina oft ausgezeichnet durch andere Methoden bestätigt wurden, ist es bei vielen zellulären Strahlenwirkungen schwer oder unmöglich, Größe und Zahl der Treffbereiche zytologisch faßbaren Strukturelementen zuzuordnen. Sieht man von der Möglichkeit von Letalmutationen

ab, so fügt sich die Vorstellung kritischer Strukturelemente makromolekularer Größe („Steuerungszentren“), deren Ausschaltung zum Zelltod führt, nur schlecht in unsere Anschauungen über Funktion und Struktur der lebenden Zelle ein. Insbesondere ist es biologisch wenig einleuchtend, daß die Energieabsorption in der ganzen übrigen Zelle außerhalb solcher hypothetischer Treffbereiche in keiner Weise zum Effekt beitragen soll. Zumindest bei solchen Dosen, bei denen die Mehrzahl der organischen Moleküle der Zelle betroffen sind, müßte man einen sofortigen Zelltod annehmen. Wo aber sollte man bei niedrigeren Dosen die Grenzen ansetzen, bei denen die Schädigung außerhalb der empfindlichen Bereiche irrelevant ist? Da aber selbst bei höchsten Dosen kein Abbiegen der Dosiswirkungskurven nach unten infolge eines zusätzlichen Schadens außerhalb der empfindlichen Bereiche beobachtet wird, fragt man sich, ob die treffertheoretische Interpretation in diesen Fällen überhaupt aufrechtzuerhalten ist.

Weitere Einwände ergeben sich aus der allgemeinen Toxikologie. Zwar regte die Treffertheorie Versuche an, auch die zelluläre Wirkung chemischer Agentien nach dem gleichen Modell zu interpretieren; aber nur bei wenigen spezifischen Agentien konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß der Zellschaden auf mono- oder oligomolekularer Wirkung innerhalb der Zelle beruht. Im allgemeinen ist vielmehr anzunehmen, daß der Effekt dadurch ausgelöst wird, daß eine sehr große Zahl molekularer Reaktionen innerhalb einer Einheit erfolgt und damit die Giftwirkung zunächst rein thermodynamisch zu behandeln ist. Die primäre Schädigung muß dann entsprechend der Reaktionskinetik des Vergiftungsprozesses kontinuierlich mit der Dosis zunehmen, und das kritische Ereignis kommt nicht bereits durch eine inhomogene Verteilung der Dosis auf die Einheiten oder besondere kritische Zellelemente zustande. Ferner ist es auffallend, daß bei einer Reihe von Bakteriengiften exponentielle Inaktivierungskurven gefunden wurden, bei denen ein Eintreffervorgang ganz außer Diskussion steht [3]. Auch wenn man Bakterien überhitzt und die Zahl der Überlebenden gegen die Expositionszeit aufträgt, erhält man Exponentialfunktionen. Der Versuch, dies durch Treffer eines Wärmequants in einem molekularen Steuerungszentrum der Zelle zu erklären, ist wohl wenig einleuchtend. Nur ENGELHARD und HOUTERMANS [6] versuchten, Exponentialfunktionen, die sie bei der Inaktivierung von Bakterien durch verschiedene Chemikalien beobachteten, in Abweichung von den treffertheoretischen Vorstellungen zu erklären. Sie gingen von einer mit der Dosis zunehmenden homogenen Schädigung aus, die deshalb zu einer statistischen Streuung des Effekts führt, weil Fluktuationen der physiologischen Zustände im Augenblick der Gifteinwirkung über den Effekt entscheiden sollen. Somit blieb es in der Pharmakologie und Toxikologie dabei, daß man nur in wenigen Fällen durch Übernahme treffertheoretischer Vorstellungen eine befriedigende Erklärung von Dosiseffektkurven fand, und daß im übrigen vor allem bei Effekten an höheren Organismen die Erklärung in einer Inhomogenität der getesteten Populationen gesucht wurde; eine der Treffertheorie mathematisch ebenbürtige Interpretation der Zufälligkeit im Auftreten des Effekts steht noch aus.

Unser Versuch, der treffertheoretischen Erklärung der Dosiswirkungsbeziehungen eine Alternative gegenüberzustellen, geht von folgender Grundvorstellung der allgemeinen Pathologie über Zell-Leben und Zell-Tod aus. Die Stabilität vitaler Systeme ist dynamischer Natur und durch einen mittels zahlreicher Regler-

mechanismen aufrechterhaltenen Gleichgewichtszustand ausgezeichnet. Solchen homoiostatischen Systemen eignet eine inhärente Labilität und damit eine gewisse Wahrscheinlichkeit zur spontanen Entgleisung; Störungen können nur begrenzt kompensiert werden. Eine letale Wirkung kann dadurch zustande kommen, daß das System entweder direkt aus seiner Gleichgewichtslage gehoben wird, oder daß es lediglich gegenüber weiteren Störungen labilisiert wird. Dies aber bedeutet, daß die Wahrscheinlichkeit für einen Zusammenbruch durch die schädigende Einwirkung für dauernd oder vorübergehend erhöht wird. Besonders wahrscheinlich ist der Eintritt des kritischen Ereignisses in einem vorgeschädigten Organismus dann, wenn das System physiologischerweise einer besonderen Belastung unterworfen wird. So stellt die Zellteilung einen kritischen Vorgang im Zell-Leben dar, bei dem ein Versagen mit gewisser Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist.

„Das Zell-Leben hält sich nicht statisch sondern dynamisch aufrecht, solange der Lebenszustand überhaupt möglich ist. Dabei ergeben sich zwei Möglichkeiten der Betrachtung, ein Ereignis als ein für die Zelle tödliches zu werten. Einmal kann man die Zerstörung der wesentlichen Zellstrukturen als Ursache des Todes der Zelle ansehen, zum anderen die Störung des funktionell-dynamischen Gleichgewichts, das aus dem Stoffwechsel der Zelle und ihren Beziehungen und Wechselwirkungen zur Umgebung und zum Organismus resultiert.“ (E. MÜLLER, [17]).

Mit anderer Terminologie könnte man sagen, daß die Entropie im geordneten System des Lebendigen ebenso wie mit dem Altern auch mit der Dosis einer Noxe zunimmt. Insbesondere Strahleneinwirkung wird immer mit einer Entropieerhöhung verbunden sein. In der gleichen Sitzung des Internationalen Kongresses für Radiation Research (Harrogate, 1962) [13], in der wir die Thematik dieser Arbeit angeschnitten haben, deutete TOBIAS den Tod (von Hefezellen) durch multiple Störungen des in der Nukleoproteidstruktur niedergelegten genetischen Code und der intrazellulären Übertragungsmechanismen — in der Sprache der Informationstheorie: durch eine Verminderung des Informationsgehaltes und eine Erhöhung des Rauschens im „Übertragungskanal“. Unsere Deutung ist insofern allgemeiner, als wir es der biologischen Detailanalyse überlassen festzustellen, welche speziellen Strukturen und Funktionen in jedem einzelnen Falle in Mitleidenschaft gezogen sind, prinzipiell aber die Möglichkeit offenlassen, daß eine Noxe wie die Strahlung gleichzeitig an sehr vielen Struktur- und Funktionseinheiten angreift. Die zelluläre Schädigung kann das Resultat zahlreicher physiko-chemischer Primärprozesse sein, und es braucht nicht betont zu werden, daß jede einzelne strahlungsschemische Reaktion der verschiedenen stofflichen Komponenten auch treffertheoretisch behandelt werden kann. Wir unterstellen aber, daß nicht immer nur oligomolekulare Vorgänge das kritische Ereignis herbeiführen, sondern daß die Schädigung das Resultat aller oder sehr vieler strahlungsschemischer Umsätze sein kann.

Diese Möglichkeit eines „elementaren Vergiftungsvorgangs“ in der bestrahlten Zelle hat RAJEWSKY — ausgehend von der Dessauerschen Punktwärme und eigenen strahlungsschemischen Studien — von Anfang an der von CROWTHER aufgestellten Hypothese einer strahlenempfindlichen Zone gegenübergestellt [20]. Er spricht von einem „chemischen Treffer“ [21] und versteht darunter die Summe sehr vieler schädigender strahlungsschemischer Veränderungen in der Zelle. Dieser

Aspekt trat aber für lange Zeit ganz in den Hintergrund gegenüber der immer weiter ausgebauten Treffbereichshypothese, und bisher wurde noch nicht versucht, eine quantitative Beziehung zwischen dem Ausmaß dieser primären strahlungschemischen Vorgänge und quantalen zellulären Endeffekten herzustellen, die ja beide eine durchaus verschiedene Dosisabhängigkeit aufweisen können.

Um diese Form der Schädigung von den in diskreten Schritten erfolgenden schädigenden Treffereignissen in bestimmten Zellbereichen abzugrenzen und um auszudrücken, daß mit diesen Primärereignissen nicht notwendigerweise schon eine Entscheidung über das Schicksal der Zelle gefallen ist, wollen wir im folgenden von einer „dispersen Vorschädigung“ sprechen. Es bestehen hierbei gewisse Beziehungen zu dem im angelsächsischen Schrifttum gebrauchten Begriff „physiological damage“, der Zellschädigungen umfaßt, die nicht auf lokalisierbare Veränderungen, vor allem der genetischen Struktur, zurückzuführen sind.

Ist die Vorschädigung mit einer Verminderung der Stabilität des Organismus verbunden, so wird die Zufuhr eines Dosisbetrages für alle Individuen gleichmäßig eine gewisse zusätzliche Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der Testreaktion, z. B. des Zelltodes, innerhalb einer gewissen Beobachtungszeit hervorrufen. Der Eintritt des Effekts unterliegt auch nach dieser Konzeption statistischen Gesetzmäßigkeiten; aber die Zufälligkeit des kritischen Ereignisses kann nun statt in der Zufälligkeit der Energieabsorption in einem späteren Glied der zum Effekt führenden Ursachenkette liegen.

Unser Modell bezieht sich zunächst nur auf komplexe zelluläre Effekte wie den Zelltod. Dennoch sollte man erwägen, ob nicht auch ein Teil solcher Vorgänge, bei denen lokale Treffer die nächstliegende Erklärung sind, auf dem Umweg über eine disperse Vorschädigung des zellulären Systems zustande kommt. Wie andere Genetiker nimmt KIMBALL [15] auf Grund seiner Studien an Paramaecien eine Art Vorschädigung („initial damage“) an, die erst während einer intermediären Phase zur Mutation („terminal event“) führt. Zwar stellt sich der Autor offenbar vor, daß auch diese Initialschädigung bereits am Ort der künftigen Mutation erfolgt; es läßt sich aber wohl nicht ausschließen, daß Mutationen auch die Folge einer zunächst nicht lokalisierten Schädigung gewisser Stoffwechselprozesse oder des Zell-Lebens im ganzen sind.

Unsere Vorstellungen entsprechen in mancher Hinsicht der Gompertzchen [7] Theorie, welche die altersabhängige Mortalität aus dem Zusammenwirken zufälliger lebensbedrohender Ereignisse und der mit dem Alter abnehmenden Widerstandskraft gegen diese zufälligen Ereignisse erklärt. SACHER [22] setzt die Wirkung einer Strahlenbelastung mit der des Alterns insofern gleich, als auch durch sie der Organismus anfälliger gegenüber Störungen wird. Diskussionen mit Herrn SACHER verdanken wir auch Anregungen bei unserem Versuch, zelluläre Strahlenwirkungen in entsprechender Weise darzustellen.

II. Spezieller Teil

Wir lösen uns also auf Grund biologischer Überlegungen von der ausschließlichen und starren Deutung der verschiedenen Formen der Dosiseffektbeziehungen und fragen, wie sich diese am einfachsten und bescheidensten, d. h. ohne Präsumption des zugrundeliegenden Wirkungsmechanismus beschreiben lassen.

Der Verlauf einer Dosiseffektkurve ist charakterisiert durch die Größe $\frac{d \ln N}{dD}$ (N = Zahl der Einheiten der Population, die nach Zufuhr der Dosis D den Testeffekt nicht zeigen.) Das ist bei halblogarithmischer Darstellung die Neigung der Kurve in jedem Punkt.

Wegen:

$$\frac{d \ln N}{dD} = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dD} \quad (1)$$

gilt:

$$\frac{\Delta N}{N} = \frac{1}{N} \frac{dN}{dD} \cdot \Delta D = \frac{d \ln N}{dD} \cdot \Delta D. \quad (2)$$

Also gibt die Größe $\frac{d \ln N}{dD}$ an, welcher Bruchteil der nach der Dosis D noch Überlebenden bei der Zufuhr des zusätzlichen Dosisbetrages ΔD dem Strahlenschaden erliegt. Wir wählen für sie die Bezeichnung „Reaktivität“ (R), um damit zu sagen, daß sie nur die terminale Reaktion beschreibt; andere Benennungen, wie etwa „Empfindlichkeit“ könnten bereits Vorannahmen über den zugrundeliegenden Mechanismus enthalten und Gedankenverbindungen zu „empfindliches Volumen“ u. a. erwecken.

Die bisher durch Eintreffer, Mehrtreffer oder Treffer in mehreren Bereichen gedeuteten Kurven unterscheiden sich durch die jeweilige Abhängigkeit der Größe R von der Dosis.

Ist R über den ganzen Dosisbereich konstant:

$$\frac{d \ln N}{dD} = -R = \text{const.}, \quad (3)$$

so ergibt sich die exponentielle Dosiswirkungsbeziehung:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-RD}. \quad (4)$$

Der Koeffizient R , der zunächst rein phänomenologische Bedeutung hat, kann nur dann, wenn wirklich ein begründeter Verdacht auf einen Eintreffermechanismus vorliegt, als das Produkt von Treffwahrscheinlichkeit und Wirkwahrscheinlichkeit angesehen werden. Bei homogener Energieverteilung auf die Einheiten ist er als der Faktor anzusehen, der die disperse Vorschädigung und damit die erhöhte Entgleisungswahrscheinlichkeit jeder Einheit der Population mit der Dosis verbindet.

Es bedarf nun der Untersuchung, wie die disperse Vorschädigung mit der Dosis zunehmen muß, damit eine exponentielle Überlebenskurve entsteht. Folgende Möglichkeiten sind zu diskutieren:

1. Eine definierte, für das Zell-Leben bedeutsame Substanz wird durch Bestrahlung inaktiviert. Schon eine geringfügige Abnahme der Substanz erhöht die Entgleisungswahrscheinlichkeit des Systems erheblich. Solange wir uns im Anfangsteil der Inaktivierungskurve dieser Substanz befinden, kann diese als linear angenommen werden, und damit kann auch die Entgleisungswahrscheinlichkeit in jedem Augenblick proportional der Dosis gesetzt werden. Die Entgleisungswahrscheinlichkeit während eines längeren Beobachtungszeitraumes oder eines komplizierten physiologischen Prozesses, wie der Mitose, steigt dementsprechend exponentiell mit der Dosis an.

2. Die disperse funktionelle Vorschädigung kann auch physikalisch-chemischer Natur sein. Sollten sich die zahlreichen Hinweise bestätigen, daß einer der primären Mechanismen der Strahlenwirkung eine Alteration der Zellmembran und gleichartiger intrazellulärer Strukturen ist, und daß manche biochemische Veränderungen und schließlich auch vitale Störungen erst Folgen einer Permeabilitätsänderung sind, so würde eine der Dosis proportionale geringe Verschiebung der bioelektrischen Potentiale, spezifischer Permeabilitätskonstanten und der stofflichen Konzentrationen in der Zelle die initiale Schädigung bedeuten. Diese würde zu einer Störung vieler, wenn nicht aller Funktionseinheiten führen, und in jeder dieser Einheiten würde sich — wie in 1. — eine erhöhte Entgleisungswahrscheinlichkeit ergeben, die zu einer exponentiellen Inaktivierungskurve führt, wenn die disperse Vorschädigung wirklich linear mit der Dosis ansteigt.

Beiden Möglichkeiten gemeinsam ist die Vorstellung, daß nicht jedem tödlichen Ereignis ein Treffer in einigen oder wenigen makromolekularen Bezirken zuzuordnen ist, sondern daß die zugrunde liegende Schädigung einer großen Zahl von Primäreignissen biochemischer oder physikalisch-chemischer Art entsprechen kann. Es besteht dann nicht mehr die direkte Beziehung zwischen der Zahl der Todesfälle und der Zahl der Treffer nach dem Motto: „Ein Treffer — ein Tod“.

Nicht um unserer Interpretation ein bestimmtes Modell zu unterlegen, sondern lediglich um ein Beispiel zu geben, in dem der Wert der Reaktivität konstant bleibt, sei der Fall einer multiplen, primär oder sekundär an mehreren Funktionseinheiten angreifenden Strahlenwirkung quantitativ behandelt.

Die Stabilität der Zelle ist gegeben durch das ordnungsgemäße Zusammenspiel einer großen Zahl von Funktionseinheiten. Nehmen wir an, in jeder dieser Komponenten induziere eine Dosis D die Wahrscheinlichkeit p_i für ein Versagen, so ist p_i eine Funktion der Dosis und kann als Potenzreihe in D geschrieben werden:

$$p_i = a_{i1} D + a_{i2} D^2 + \dots \quad (5)$$

Die Gesamtwahrscheinlichkeit P für das Entgleisen des vitalen Systems ist dann:

$$P = 1 - \prod_i (1 - p_i). \quad (6)$$

Ist die Zahl der Komponenten groß, so ergeben auch schon kleine Werte p_i einen großen Wert P . Rechnen wir aber mit kleinen Entgleisungswahrscheinlichkeiten p_i , so können wir die Potenzentwicklungen mit dem ersten Glied abbrechen und erhalten:

$$p_i = a_{i1} D \quad (7)$$

und folglich:

$$P = 1 - \prod_i (1 - a_{i1} D) = 1 - e^{-\sum_i a_{i1} D} \quad (8)$$

Das heißt, es ergibt sich eine Exponentialfunktion für die Überlebenswahrscheinlichkeit.

In unserem Modell, nach dem die Strahlung eine Vorschädigung bewirkt, die sich in einer Erhöhung der Entgleisungswahrscheinlichkeit der Funktionen des vitalen Systems äußert, kann also eine exponentielle Dosiswirkungsbeziehung gerade darauf hinweisen, daß die Strahlung an einer Vielzahl von Funktionseinheiten angreift. Eine andere Möglichkeit für das Zustandekommen exponentieller Dosiseffekturven wird in einer zweiten Arbeit diskutiert [14].

In lebenden Objekten werden meist die Voraussetzungen des eben besprochenen Falles nicht erfüllt sein.

Eine kritische Substanz mag in der Zelle im Überschuß vorhanden sein, so daß ihre Inaktivierung erst von einem gewissen Grad ab für die Zelle nachteilig wird. Ein Glied einer Reaktionskette werde zwar linear mit der Dosis inaktiviert; der terminale Umsatz, dessen Verminderung der dispersen Vorschädigung der Zelle im ganzen entspricht, ist aber entsprechend der Kettenlänge weitgehend stabilisiert, wie das PAULY [18] und HARDER und HUG [9] an bestrahlten Enzymsystemen zeigen konnten. Der Ausfall einzelner Funktionskomponenten kann in anderer und komplizierterer Art kompensierbar sein. Außerdem kann die Schädigung einzelner besonders kritischer Elemente zu einer Entgleisungswahrscheinlichkeit führen, die groß gegenüber der Entgleisungswahrscheinlichkeit der übrigen Elemente und nicht mehr klein gegen 1 ist.

In allen diesen Fällen ist unsere Näherung, die sich auf lineare Glieder beschränkte, nicht mehr gerechtfertigt, und es ist zu erwarten, daß sich die Reaktivität R mit zunehmender Dosis erhöht.

Dann gilt statt Gleichung (3):

$$-\frac{d \ln N}{dD} = R(D) \quad (9)$$

und die halblogarithmische Dosiswirkungskurve weicht von einer Geraden ab.

Über die Art, in der die Reaktivität $R(D)$ mit der Dosis in jedem Einzelfall ansteigt, kann ohne biologische Detailanalyse keine Aussage gemacht werden. Man kann aber annehmen, daß sich unter Bestrahlung ein erhöhter stationärer Wert der Reaktivität einstellt.

Die Fähigkeit des Organismus kleine Strahlendosen ebenso wie kleine Mengen vieler Gifte zu verkräften, kann sich mit steigender Dosis erschöpfen und das System wird erst nach Erreichen einer gewissen Dosis starr, d. h. mit konstanter „Empfindlichkeit“, reagieren. Die Reaktivität $R(D)$ ergibt sich dann als eine konstante Größe R' , vermindert um den Betrag der Kompensationsfähigkeit $K(D)$.

Unsere theoretischen Überlegungen sind nunmehr an vorliegendem experimentellen Material zu prüfen, indem wir fragen, ob die bisher als Mehrtreffer- oder Mehrtrefferbereichskurven gedeuteten Dosiswirkungskurven dadurch gekennzeichnet sind, daß die Größe $R(D)$ unter Bestrahlung gegen einen erhöhten Wert konvergiert.

In Abb. 1a und 1b ist der Anstieg der Reaktivität $R(D)$ mit der Dosis für den Fall der „Mehrrefferkurven“ und für den Fall der „Mehrbereichskurven“

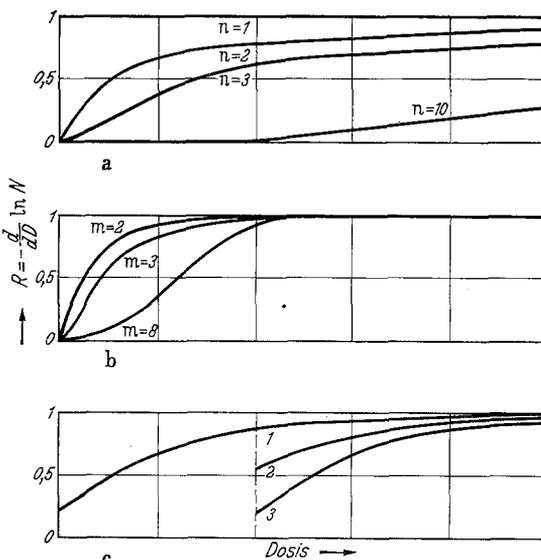


Abb. 1. Abhängigkeit der Größe R (Reaktivität) von der Dosis für den Fall a) der Mehrrefferkurven, b) der Mehrrefferbereichskurven, c) der in Abb. 2 dargestellten Dosiswirkungskurven an Zellkulturen [gemäß der Gleichung (11)]

dargestellt. Wie man sieht, steigt sie in allen Fällen asymptotisch gegen einen Grenzwert an. Die Kurven, die den Ansätzen der Treffertheorie genügen, entsprechen also auch unserem Ansatz. Um jedoch in einem speziellen Fall die verschiedenen Ansätze zu vergleichen, müssen wir nähere Annahmen über die Abhängigkeit der Größe K von der Dosis machen. Es liegt nahe, versuchsweise anzusetzen, daß K exponentiell mit der Dosis abfällt:

$$R(D) = R' - K_0 e^{-\gamma D}. \quad (10)$$

Mit dieser Annahme nimmt Gleichung (9) folgende Form an:

$$\frac{d \ln N}{dD} = - \left(R' - K_0 e^{-\gamma D} \right). \quad (11)$$

Durch Integration gelangt man zu der Dosiswirkungskurve:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -R' \cdot D + \frac{K_0}{\gamma} \left(1 - e^{-\gamma D} \right), \quad (12)$$

deren Verlauf im folgenden diskutiert und experimentellen Daten gegenübergestellt wird.

Für eine Überprüfung der verschiedenen Ansätze eignen sich besonders die Ergebnisse neuerer Untersuchungen an Zellkulturen, da sie Dosiswirkungskurven bisher nicht erreichter Genauigkeit über einen weiten Dosisbereich liefern. Wir wählen als Beispiel eine Versuchsreihe von ELKIND und SUTTON [5]. Die Autoren untersuchten die Vernichtung der Fähigkeit isolierter Zellen zur Kolonienbildung durch

Röntgenstrahlen. In Abb. 2 entsprechen die zu Kurve 1 gehörigen Punkte einmaligen Bestrahlungen, während die zu den Kurven 2 und 3 gehörigen Punkte erhalten wurden, indem nach Zuführung von 505 r eine Bestrahlungspause von 2,5 bzw. 23 Std. eingeleitet wurde. Ausgezogen sind die Kurven, die nach den Meßwerten Gleichung (12) entsprechen. Offensichtlich stehen die Beobachtungswerte im Einklang mit unserem Ansatz. In Abb. 1 (c) ist der Verlauf der Reaktivität zu Abb. 2 angegeben, d. i. die Ableitung der in Abb. 2 gezeichneten Kurven.

In der Originalarbeit wird die experimentell ermittelte Dosiswirkungskurve als eine 8-Treffbereichskurve gedeutet.

T. ALPER et al. [2] haben inzwischen die allgemein übliche Praxis kritisiert, Schulterkurven von vornherein als Mehrtreffer- oder Mehrtreffbereichskurven auszulegen und aus ihnen auf diskrete morphologische Orte und Einheiten zu schließen. Die Autoren schlagen vor, den Wert des Punktes, an dem die Asymptote der Dosiswirkungskurve in halblogarithmischer Darstellung die Ordinate schneidet,

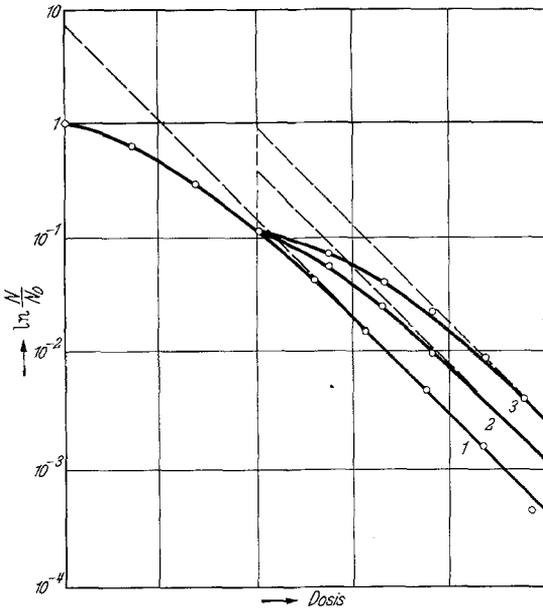


Abb. 2. Strahlenwirkung auf Säugetierzellen. Meßpunkt o nach ELKIND et al. auf Kurven gemäß der Gleichung (12)

unverbindlich als Extrapolationsnummer zu bezeichnen, die nur dann als Indikator für die Zahl der Treffbereiche genommen werden sollte, wenn diese auch wirklich identifizierbar sind. Wir zeigen in einer anderen Arbeit [14], daß nicht einmal, wenn man im Bereich der Treffertheorie bleibt, die Extrapolationsnummer immer als Zahl der empfindlichen Bereiche anzusehen ist.

Zu den Dosiswirkungskurven kann die Extrapolationsnummer e berechnet werden, und zwar gilt

$$\ln e = \int_0^{\infty} [1 - R(D)] dD, \quad (13)$$

wenn die Kurve so normiert ist, daß $R' = 1$. Für die „Mehrtrefferkurven“ divergiert dieses Integral; es gibt also keine endlichen Extrapolationsnummern. Für die „Mehrbereichskurven“ ist die Extrapolationsnummer in der einfachsten Interpretation gleich der Zahl der „Treffbereiche“. Für unseren speziellen Ansatz nach Gleichung (10) konvergiert das Integral ebenfalls. Es ergibt sich:

$$e = e^{\frac{K_0}{\nu}}. \quad (14)$$

Die Extrapolationsnummer ist also um so größer, je größer die Kompensationsfähigkeit zu Beginn der Bestrahlung (K_0) ist und um so kleiner, je schneller sich die Kompensationsfähigkeit bei Bestrahlung erschöpft.

Der zeitliche Verlauf der Strahlenschädigung einschließlich der Fragen des Zeitfaktors und der Erholung wird in unserer zweiten Arbeit behandelt [14]. Hier sei nur auf folgenden Punkt hingewiesen: ELKIND et al. [5a] stellten fest, daß die nach Zufuhr eines Dosisbetrages nicht absterbenden Zellen sich innerhalb von etwa 30 Std. in wellenförmigem Verlauf von der Strahlenschädigung insofern erholen, als sich nach dieser Zeit bei einer erneuten Bestrahlung die ursprüngliche Anfangsneigung der Dosiswirkungskurve ergibt (Abb. 2, Kurve 2 und 3). Die Autoren nehmen an, daß die mittlere Anzahl der empfindlichen Bereiche in der Zelle unter Bestrahlung absinkt und danach wieder zunimmt, um dann aber nach einigen Stunden vorübergehend wieder abzunehmen. Eine solche biologisch unwahrscheinliche Annahme ist in unserem Modell nicht nötig; der Vorgang läßt sich einfacher so beschreiben, daß die Reaktivität unter Bestrahlung zunimmt, um danach in oszillierendem Verlauf wieder auf ihren alten Wert abzusinken, daß also die Schädigung der Kompensationsfähigkeit ein reversibler Vorgang ist.

Eine besondere Berechtigung und geradezu eine Notwendigkeit zu der von uns vorgeschlagenen allgemeineren Formulierung der Dosiswirkungsbeziehung sehen wir in den zahlreichen Experimenten, bei denen am gleichen Objekt der Übergang von exponentiellen Kurven zu „Schulterkurven“ durch Variation der Bestrahlungsbedingungen und des Zustandes des Objekts vor, während und nach der Bestrahlung hervorgerufen werden konnte, und bei denen ein entsprechender Wechsel der Treffbereichszahl oder der Trefferzahl eine recht gezwungene oder nichtssagende Annahme ist. Von den vielen Belegen, die hierfür erbracht werden können, seien nur einige besonders charakteristische zitiert.

In Fortführung ihrer bereits zitierten Arbeiten haben ELKIND und SUTTON [5b] gefunden, daß bei fraktionierter Bestrahlung mit mehr als 20stündigem Intervall exponentielle Überlebenskurven gewonnen werden, deren Neigung um so

geringer wird, je kleiner die einzelnen Dosisportionen sind. Man kann annehmen, daß sich die Strahlenwirkung aus einem kompensierbaren und einem nicht kompensierbaren Anteil zusammensetzt, und daß bei einer Fraktionierung, bei der den Zellen Zeit zur Erholung gelassen wird, nur letzterer übrigbleibt. Eine Änderung der O_2 -Spannung während der Bestrahlung scheint die Kurvenformen nicht zu beeinflussen, sondern nur eine über den ganzen Dosisbereich konstante Änderung der Empfindlichkeit hervorzurufen (GRAY [8], DEWEY [4]). Dagegen können die Zuchtbedingungen, unter denen ein Bestrahlungsobjekt gewonnen wurde, die Form der Dosiseffektkurven bestimmen. Die Dosiseffektkurven von *E. coli* B/R, die bei aerob gezüchteten Bakterien exponentiell verlaufen und sich bei Variation der Sauerstoffspannung während der Bestrahlung nur durch ihre Neigung unterscheiden, sind sigmoid, wenn die Bakterien anaerob in dem gleichen Medium mit Glukoseansatz gezüchtet wurden (HOLLAENDER u. a. [11]). Diese Beobachtung bestätigten später HOWARD-FLANDERS [12] und ALPER [1]; sie stellten ebenfalls fest, daß sich durch eine solche Änderung der Kulturbedingungen exponentielle Überlebenskurven in sigmoide verwandeln. Die zunächst versuchte treffertheoretische Erklärung der sigmoiden Kurven durch das Auftreten vielkerniger und multizellulärer Organismen hat sich nicht verifizieren lassen. Dagegen konnten ADLER und STAPLETON (in [10]) nachweisen, daß Kurvenverlauf und Strahlenresistenz von der Glukosekonzentration und dem pH -Wert der Kultur während der Züchtung abhängen, und sie postulieren eine intrazelluläre Protektorsubstanz, die in relativ geringer und mit den Kulturbedingungen variierender Konzentration in der Zelle vorhanden und strahlenlabil ist. ALEXANDER (in [10]) zeigt in Zusammenfassung zahlreicher Erfahrungen des chemischen Strahlenschutzes an Hand schematischer Kurven, daß exponentielle Dosiseffektkurven mit zunehmender Konzentration des Strahlenschutzstoffes in Kurven mit größer werdender Schulter aber annähernd gleicher Endneigung übergehen. In den beiden zuletzt genannten Fällen ist es also bereits möglich, das, was wir oben sehr allgemein als Kompensationsfähigkeit der Zelle bezeichnet haben, im chemischen Sinne zu deuten. Weitere Beispiele für den Einfluß der Versuchsbedingungen, vor allem der Nachbehandlung der bestrahlten Objekte auf die Kurvenform, finden sich bei ALPER [1].

Man muß annehmen, daß die Prozesse, welche den Organismus befähigen, die Strahlenwirkung in begrenztem Umfang zu kompensieren, äußerst mannigfaltiger Natur sind und auf ganz verschiedenen Ebenen in die Ursachenkette eingreifen können, die vom primären physikalischen Ereignis bis zum manifesten Effekt führt. Die Form der Dosiswirkungskurven und die daraus gemäß unserem Modell abgeleiteten Konstanten geben zumindest Anhaltspunkte für die weitere Suche nach diesen Mechanismen.

Nach unseren Vorträgen in Harrogate und vor Abschluß dieser Arbeit ging uns das Manuskript der Lea-Gedächtnisvorlesung von E. L. POWERS, 1961 [19] zu, in der der Autor unter Zusammenfassung seiner Studien an Bakteriosporen (*Bac. megaterium*) allgemein zur treffertheoretischen Interpretation von Überlebenskurven Stellung nimmt. Viele Gedankengänge des Autors stimmen gut mit unseren Überlegungen überein. POWERS definiert Überlebenskurven, die sofort oder erst bei höheren Dosen einen exponentiellen Verlauf annehmen, durch zwei Parameter, nämlich die Extrapolationsnummer und die Sensibilität, welch

letztere durch die Neigung des geraden Kurventeils in halblogarithmischem Maßstab gegeben ist (also unserer Größe R' entspricht). Mit der außerordentlichen Präzision seiner Technik kann der Autor zeigen, daß beim gleichen Stamm die Empfindlichkeit stark vom Partialdruck verschiedener Gase bei Bestrahlung abhängt, aber weitgehend unabhängig von den Kulturbedingungen ist; die Extrapolationsnummer dagegen kann durch diese variiert werden. Er hält es für möglich — und zwar ganz in unserem Sinne und ebenfalls unter Berufung auf die Ergebnisse von ELKIND und SUTTON [5] an Gewebekulturen —, daß die Extrapolationsnummer gegeben ist durch ein sich mit der Dosis erschöpfendes aber erholungsfähiges Reservoir einer Substanz, die einen Teil des Strahlenschadens kompensieren kann. An der Interpretation des exponentiellen Teils der Kurve als Eintreffervorgang hält der Autor jedoch nach wie vor fest. Demgegenüber glauben wir, daß die Aufgabe dieser Annahme eine Konsequenz der übrigen Überlegungen ist, die der Autor anstellt. Würde man daran festhalten, so gäbe es überhaupt nur noch Eintrefferreaktionen in der Strahlenbiologie.

Unsere Deutung experimentell ermittelter Dosiswirkungsbeziehungen mag zunächst aussehen wie ein Verzicht auf eine Aufklärung der zugrunde liegenden biophysikalischen Wirkungsmechanismen, die durch die Übernahme der für makromolekulare Strahlenwirkungen gültigen treffertheoretischen Prinzipien auf zelluläre Effekte so nahegerückt zu sein schien. Aber erstens bestreiten wir keineswegs die Richtigkeit der treffertheoretischen Behandlung für die Fälle, in denen sie durch biologische Realitäten gestützt werden kann; und zweitens ist es unter Umständen nötig eine auch noch so bestechende Hypothese aufzugeben und zu einer allgemeineren Formulierung zurückzukehren, wenn die Gefahr der Erstarrung droht. Eine solche Situation liegt vor, seitdem es nicht mehr oder nur noch in unbefriedigender Weise gelingt zahlreiche neu beobachtete Phänomene der zellulären Strahlenwirkung, wie die Verformung der Dosiswirkungskurven durch beeinflussende Faktoren, Erholungsvorgänge oder Reaktivierung mit der treffertheoretischen Grundvorstellung und Nomenklatur zu beschreiben. Die gewählte generelle Deutung, die von grundsätzlichen Anschauungen der Biologie und Pathologie über Funktion und Versagen lebender Gebilde ausgeht, erlaubt die gleiche Strenge der mathematischen Behandlung der Dosiswirkungsbeziehungen wie die Treffertheorie. Auf ihrer Basis konnten bereits einige experimentell ermittelte Dosiseffektbeziehungen mit bekannten biochemischen und zellulären Prozessen in Relation gesetzt werden, und werden sich in Zukunft weitere die Dosiswirkungskurven bestimmende physiologische und strahleninduzierte Vorgänge konkretisieren lassen, vor allem, wenn entsprechende Experimente speziell unter diesem Aspekt angesetzt werden.

Zusammenfassung

Der Zufallscharakter zellulärer Strahleneffekte muß nicht stets auf einer Variabilität der Strahlenempfindlichkeit oder auf einer inhomogenen Verteilung der absorbierten Energie auf die Einheiten einer bestrahlten Population oder ihre „Treffbereiche“ beruhen, sondern kann auch bei einer kontinuierlich mit der Dosis zunehmenden „dispersen Vorschädigung“ aller Einheiten zustandekommen, wenn diese die inhärente Labilität des lebenden Systems erhöht. Das zufallsartige „kritische Ereignis“, das über das Eintreten der Testreaktion entscheidet, muß

daher nicht unbedingt schon durch die Energieabsorption gegeben sein, sondern kann in einem späteren Glied der Ursachenkette liegen.

Charakteristisch für den Verlauf von Überlebenskurven ist ihre Neigung in halblogarithmischer Darstellung; wir bezeichnen diese Größe als „Reaktivität“. Kurvenformen, die bisher durch den Mehrtreffer- oder Mehrbereichsansatz gedeutet wurden, ergeben sich auch, wenn man allein die Tatsache berücksichtigt, daß die Reaktivität mit der Dosis ansteigen kann.

Strebt die Reaktivität mit steigender Dosis einem Endwert zu, so kann dies darauf beruhen, daß eine dem vitalen Objekt inhärente Kompensationsfähigkeit sich mit der Dosis erschöpft. In einigen Fällen wird die biochemische Natur einer solchen Kompensationsfähigkeit bereits deutlich.

Literatur

- [1] ALPER, T.: In: Mechanisms in Radiobiology, ed. by M. ERRERA and A. FORSSBERG, Vol. I. New York and London: Academic Press 1961.
- [2] —, N. E. GILLES and M. M. ELKIND: *Nature* **186**, 1062 (1960).
- [3] CLARK, A. J.: *Hdb. d. exp. Pharmakologie*, Ergänzungsband zu *Gen. Pharmacol.* **4**, 96 (1937).
- [4] DEWEY, D. L.: *Nature* **186**, 780 (1960).
- [5] ELKIND, M. M., and H. SUTTON: *Nature* **184**, 1293 (1959). — *Radiation Research* **13**, 556 (1960).
- [6] ENGELHARD, H., u. TH. HOUTERMANS: *Z. Naturforsch.* **6b**, 384 (1951).
- [7] GOMPERTZ, B.: *Phil. Trans. B.* **1**, 214—294 (1820); 513—585 (1825); **152**, 511—551 (1862).
- [8] GRAY, L. H.: *Am. J. Roentgenol. Radium Therapy* **85**, 803 (1961).
- [9] HARBER, D., u. O. HUG: *Strahlentherapie* **106**, 245 (1958).
- [10] HOLLÄENDER, A.: *Radiation Protection and Recovery*. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press 1960.
- [11] —, G. E. STAPLETON and F. L. MARTIN: *Nature* **167**, 103 (1951).
- [12] HOWARD-FLANDERS, P., and T. ALPER: *Radiation Research* **7**, 518 (1957).
- [13] Second International Congress of Radiation Research, Aug. 5—11, 1962, Harrogate Abstracts issued 15 June, 1962.
- [14] KELLERER, A., u. O. HUG: *Biophysik*, **1**, 33 (1963).
- [15] KIMBALL, R. F., N. GAITHER and S. W. PORCHE: *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 133 (1961).
- [16] LEA, D. E.: *The Action of Radiation in Living Cells*. 2nd Ed., Cambridge: Univ. Press 1956.
- [17] MÜLLER, E.: In: *Hdb. d. allg. Pathologie*, 2. Bd., 1. Teil — *Das Cytoplasma*. S. 615. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- [18] PAULY, H., u. B. RAJEWSKY: In: *Progress in Radiobiology*, ed. by J. S. MITCHELL, p. 32. London: Oliver and Boyd: 1956.
- [19] POWERS, E. L.: *Phys. in Med. Biol.* **7**, 3 (1962).
- [20] RAJEWSKY, B.: *10 Jahre Forschung*. Hrsg. v. F. Dessauer. Leipzig: Gg. Thieme-Verlag 1931.
- [21] — *Naturforschung und Medizin in Deutschland*, Bd. 22, Biophysik, Teil I. Wiesbaden: Dieterich'sche Verlagsbuchhandlg. 1949.
- [22] SACHER, G. A.: *Reparable and Irreparable Injury: A Survey of the Position in Experiment and Theory*. In: *Radiation Biology and Medicine*, ed. by W. D. CLAU. Reading, Mass.: Addison-Wesley Publ. Co., Inc. 1958.
- [23] TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: *Biophysik* **1**, Leipzig: S. Hirzel-Verlag 1947.
- [24] ZIMMER, K. G.: *Studien zur quantitativen Strahlenbiologie*. Akad. d. Wiss. u. d. Literatur in Mainz, Nr. 3. Wiesbaden: Steiner 1960.

Professor Dr. O. HUG u. Dipl. Phys. A. KELLERER
Strahlenbiologisches Institut der Universität
8 München, Baviaring 19