

Член-корреспондент АН СССР Н. И. НУЖДИН,
Г. А. ЧУДИНОВСКАЯ, О. Н. КИТАЕВА

ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Несмотря на большое количество исследований, посвященных фракционированному облучению, в которых тестом служила частота появления клеток с хромосомными aberrациями в различных тканях и органах, однозначного ответа получено не было. По наблюдениям одних авторов, фракционированное облучение организма приводит к снижению биологического эффекта (¹⁻¹¹). Данные других исследователей указывают на наличие порышенной эффективности фракционированного облучения по сравнению с однократным (¹²⁻¹⁶). Наконец, в ряде работ приводятся данные, свидетельствующие о том, что однократное и фракционированное облучения вызывают одинаковую по величине реакцию облученного организма (^{17, 18}). Причиной имеющихся противоречивых данных, вероятно, является использование разных объектов, доз, интервалов между фракциями, а также времени фиксации материала после облучения.

Таблица 1

Частота появления aberrантных клеток в разные сроки после облучения
(первая серия опытов)

Вариант	1 час		4 часа		24 часа	
	число просмотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число просмотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число просмотр. клеток	в т. ч. с aberrациями
50 p	1616	18,1±0,96	1204	18,6±1,12	804	8,7±0,99
100 p	1007	34,4±1,50	3499	32,5±0,83	803	10,7±1,09
150 p	2416	43,8±1,07	1601	47,6±1,33	2190	11,8±0,69
50 + 100 p с интервалом 1 час	2364	47,5±1,10	1721	48,6±1,20	1608	12,0±0,81
Контроль	4527	6,25±0,36				

Существует ряд объяснений эффекта фракционирования доз радиации, но единая точка зрения, разъясняющая особенность этого явления, отсутствует. Уменьшение выхода хромосомных нарушений обычно связывают с ограниченным временем жизни хромосомных фрагментов, в течение которого разрывы сохраняют способность взаимодействовать с друг с другом (теория Сакса). Лейн выдвинул гипотезу о физиологическом влиянии первой дозы на хромосомы, которые в течение некоторого времени становятся более устойчивыми к повторному облучению, давая уменьшенный выход aberrаций. Затем «защитное» влияние первой зоны снимается и наблюдается взаимодействие разрывов, индуцированных первой и второй дозами. В последнее время видное место отводится «системе восстановления», различной степени ее поражения при однократном и фракционированном облучении.

Сказанное делает очевидным необходимость дальнейших исследований. В связи с этим нами была выполнена работа по изучению радиочувствительности эмбриональных клеток печени мышей при фракционированном и однократном облучении беременных самок. В качестве объекта использовались мыши линии BALB/c. Самки в возрасте 3—3,5 мес. подсажива-

лись на одни сутки к одновозрастным самцам. Беременные самки на 16 день после подсадки подвергались общему однократному рентгеновскому облучению в дозах 50; 100 и 150 р и фракционированному с разделением дозы 150 р на две фракции: 50 и 100 р с интервалом 1 час в первой серии опытов и 6; 17 и 20 час. во второй. Забой животных осуществлялся через 1; 4 и 24 часа после последнего облучения в первой серии опытов и через 2; 4; 6; 10 и 20 час. во второй. Для контроля параллельно проводился забой беременных необлученных самок. На каждую точку фиксации забивались 3—4 беременные самки.

Облучение животных производилось на аппарате РУП-1 при следующих условиях: фокусное расстояние 60 см, 190 кв, 15 ма, мощность дозы 17 и 19 р/мин., фильтры 0,5 мм Cu и 0,75 мм Al. Эмбрионы фиксировались в смеси метилового спирта с ледяной уксусной кислотой (3:1), и из ткани печени эмбрионов, окрашенной по Фельгену, готовились постоянные давленные препараты. Учитывалось количество клеток с хромосомными aberrациями (мосты и фрагменты), находящихся на стадиях поздней анафазы и ранней телофазы. Критерием повреждающего действия облучения служила частота появления клеток с хромосомными aberrациями.

Результаты сведены в табл. 1 и 2, из которых видно, что однократное рентгеновское облучение эмбрионов мышей в дозах 50, 100 и 150 р и фракционированное в дозе 50 + 100 р с использованными нами интервалами между фракциями при всех сроках фиксации печени приводит к значительному, статистически достоверному увеличению выхода клеток с хромосомными aberrациями по сравнению с необлученным контролем ($P < 0,05$). Изменение выхода абберантных клеток в зависимости от сроков фиксации при всех использованных как однократных, так и фракционированных дозах воздействия идет аналогично. В пределах каждой дозовой группы большее количество клеток с хромосомными нарушениями наблюдалось в первые сроки фиксации с максимумом через 6 час. после воздействия. В последующие сроки частота абберантных клеток снижается и при фиксации материала

Таблица 2

Частота появления абберантных клеток в разные сроки после облучения (вторая серия опытов)

Вариант	2 часа		4 часа		6 часа		10 час.		20 час.	
	число прос-мотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число прос-мотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число прос-мотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число прос-мотр. клеток	в т. ч. с aberrациями	число прос-мотр. клеток	в т. ч. с aberrациями
50 р	1803	48,7 ± 0,92	1803	22,7 ± 0,99	1801	30,8 ± 1,09	2414	18,8 ± 0,79	2401	9,5 ± 0,60
100 р	1804	37,2 ± 1,21	1405	34,6 ± 1,27	1400	51,3 ± 1,33	2201	29,2 ± 0,97	1605	13,5 ± 0,85
150 р	1800	51,6 ± 1,18	2592	53,7 ± 0,98	1601	60,8 ± 1,22	1391	35,8 ± 1,28	1602	16,0 ± 0,92
50 + 100 р										
Интервал 6 час.	2000	43,0 ± 1,11	1602	46,6 ± 1,24	1601	46,8 ± 1,25	1803	29,7 ± 1,08	1705	14,7 ± 0,86
Интервал 17 час.	1802	37,2 ± 1,14	1600	45,3 ± 1,24	1407	53,8 ± 1,33	1600	25,6 ± 1,09	1610	16,2 ± 0,92
Интервал 20 час.	1800	30,8 ± 1,15	1816	35,7 ± 1,12	1402	50,8 ± 1,33	1413	27,4 ± 1,19	1205	14,4 ± 1,01
Контроль	4823	7,2 ± 0,37								

через 24 часа после воздействия приближается к уровню необлученного контроля, хотя еще достоверно отличается от него. Это свидетельствует о том, что через сутки после облучения значительное количество хромосомных нарушений элиминирует.

С увеличением дозы воздействия количество аберрантных клеток возрастает. Обработка данных по методу наименьших квадратов показала прямую зависимость выхода хромосомных aberrаций от дозы воздействия, только их частота меняется в зависимости от сроков фиксации печени после облучения.

При фракционировании дозы 150 р ($50 + 100$) с интервалом между фракциями в один час (см. табл. 1) количество клеток с хромосомными нарушениями оказалось очень близким к таковому при однократном воздействии в той же дозе. Это объясняется тем, что через час после воздействия в дозе 50 р, когда дается второе облучение, количество цитогенетических повреждений еще продолжает нарастать, происходит суммация нарушений, возникших при первом и повторном облучении. Репарационный процесс в клетках печени эмбрионов мышей после рентгеновского облучения беременных самок в дозе 50 р происходит в период между 4 и 24 час. после воздействия. Поэтому в следующей серии опыта были использованы более длительные интервалы между фракциями, с тем чтобы вторая доза приходилась на период восстановления.

Результаты второй серии опыта показывают, что при фракционированном облучении в дозе 150 р с интервалами между фракциями 6; 17 и 20 час. при всех сроках фиксации имело место снижение выхода аберрантных клеток в ткани печени эмбрионов по сравнению с однократным воздействием в той же дозе. Полученные различия статистически достоверны при фиксации материала через 2; 4; 6 и 10 час. и недостоверны через 20 час. после облучения. Частота появления аберрантных клеток при фракционировании дозы 150 р оказалась очень близкой к уровню нарушений, полученных при использовании однократной дозы 100 р. Достоверные отклонения от этого уровня наблюдались лишь в первые два срока фиксации — ниже уровня 100 р при исследовании через 2 часа после облучения с интервалом 20 час. ($R = 3,8$) и выше уровня 100 р через 4 часа после воздействия с интервалами 6 и 17 час. ($R = 6,7$ и $6,0$ соответственно).

Исследование характера хромосомных нарушений показало, что как однократное, так и фракционированное облучение главным образом увеличивает количество клеток с фрагментами. Число клеток с мостами и клеток с мостами и фрагментами возрастает в меньшей степени.

Наиболее интересные данные получены при фракционировании дозы с интервалом между фракциями 6 час. При однократном облучении в дозе 50 р максимум мутабельности наблюдается через 6 час. после воздействия. Поэтому казалось, что повторное облучение, произведенное в этот пик, должно дать значимое увеличение выхода клеток с хромосомными нарушениями по сравнению с однократным воздействием. Однако не только не была получена суммация эффекта, но, наоборот, наблюдалось снижение выхода хромосомных мутаций. Эти результаты можно объяснить исходя из положений Лейна. Согласно этой гипотезе, в облученной клетке происходят физиологические сдвиги, приводящие к снижению ее чувствительности к повторному воздействию.

Уменьшение выхода клеток с хромосомными aberrациями при делении дозы 150 р на две фракции, 50 и 100 р, с интервалами между ними 17 и 20 час. по сравнению с однократным воздействием в дозе 150 р можно объяснить исходя из данных, полученных нами при однократном облучении в дозе 50 р. Ко времени, когда дается второе облучение, еще не происходит полного восстановления чувствительности клеток, и вторая доза, данная на фоне остаточного поражения, которое наблюдается спустя 17 и 20 час. после облучения в дозе 50 р, не приводит к суммации эффек-

тов этих двух воздействий. Вместо этого отмечено снижение выхода структурных нарушений до уровня второй дозы.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пуцзино-на-Оке

Поступило
15 VI 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. И. Нуждин, Р. Л. Дозорцева, Н. С. Самохвалова, Сборн. Действие ионизирующих излучений на растительный и животный организмы, «Наука», 1965, стр. 4. ² Г. М. Роничевская, Л. Н. Черныченко, Информ. бюлл. радиобиол., 10, 82 (1967). ³ А. Г. Антошечкин, ДАН, 178, № 3, 707 (1968). ⁴ О. П. Ольшевская, И. М. Шапиро, С. П. Ярмоненко, ДАН, 178, № 1, 226 (1968). ⁵ О. П. Ольшевская, С. П. Ярмоненко, Радиобиология, 9, 1, 58 (1969). ⁶ М. В. Генералова, Генетика, 4, 7, 17 (1968). ⁷ М. В. Генералова, Генетика, 5, 8, 84 (1969). ⁸ T. C. Evans, R. F. Hagemann, D. B. Leeper, Radiation, Res., 27, 3, 537 (1966). ⁹ K. R. Brizzee, L. A. Jacobs, C. J. Bench, ibid., 31, 3, 415 (1967). ¹⁰ A. D. Tate, Mut. Res., 5, 109 (1968). ¹¹ W. Sheridan, ibid., 5, 163 (1968). ¹² Г. Шнайдер, Х. Эхверн, Изв. АН Эст. ССР, 17, 3, 265 (1968). ¹³ М. Д. Померанцева, М. Г. Домшлак, Генетика, 5, 9, 107 (1969). ¹⁴ А. Б. Бигалиев, Т. П. Любимова, В. А. Тарасов, Генетика, 5, 8, 162 (1969). ¹⁵ M. F. Lyon, T. Morris, Mut. Res., 8, 1, 191 (1969). ¹⁶ Л. С. Царапкина, К. А. Царапкина, Радиобиология, 10, 1, 89 (1970). ¹⁷ Н. П. Бочков, Сборн. Влияние ионизирующих излучений на наследственность, «Наука», 1966, стр. 131. ¹⁸ В. І. Мілько, С. М. Пілявська, Доп. АН УССР, Б, № 5, 455 (1969).