

Член-корреспондент АН СССР Н. И. НУЖДИН, Г. В. НИЖНИК

**СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОДНОКРАТНОГО
И ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ
НА ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИБЕЛЬ У КРОЛИКОВ**

До настоящего времени проведено недостаточно исследований, посвященных сравнительной оценке мутагенного действия однократного и фракционированного облучения половых клеток млекопитающих. В выполненных исследованиях установлено, что фракционирование дозы оказывает разное влияние в зависимости от продолжительности интервала между облучением и соотношением доз, даваемых при разных фракциях. Опыты проводились на мышах и только на одной из стадий развития половых клеток — сперматогониях (1-5). Что касается изучения влияния длительности воздействия радиации на частоту мутаций при облучении половых клеток на постмейотических стадиях развития, то этот вопрос у млекопитающих еще практически не исследован. Известно лишь, что при облучении сперматозоидов мышей с низкой мощностью дозы снижения частоты мутаций не наблюдалось (7, 8).

В опытах, проведенных на насекомых с фракционированным облучением сперматозоидов, обращает на себя внимание противоречивость полученных результатов. С одной стороны, фракционированное облучение сперматозоидов и сперматид приводит к увеличению числа мутаций по сравнению с однократным воздействием в той же дозе (9, 10), с другой — есть исследования, в которых эффект фракционирования вообще не обнаружен при определении частоты мутаций (11-14).

Предполагается, что отсутствие эффекта фракционирования дозы при облучении сперматозоидов связано с их низкой метаболической активностью. В настоящее время нет ясного представления относительно роли фактора времени при облучении зрелых половых клеток млекопитающих. Поэтому целью настоящих исследований было изучение влияния однократного и фракционированного облучения сперматозоидов на частоту возникновения доминантных детальных мутаций у кроликов.

Сперму собирали на искусственную вагину и после оценки качества каждого эякулята, их смешивали и разбавляли тартратным разбавителем (1:1) для сохранения нормальных условий жизни сперматозоидов. Облучение сперматозоидов *in vitro* проводилось γ -лучами Co^{60} однократно 600 и 300 р и фракционированно 2 раза по 300 р с интервалом между облучениями 60 мин. Мощность дозы ГУБЭ-800 30 р/мин. Искусственное осеменение самок, вскрытие и подсчет эмбриональных потерь производилось по методике, описанной ранее (15).

Таблица 1

Влияние однократного и фракционированного облучения сперматозоидов на эмбриональное развитие у кроликов (в процентах с учетом контроля, по Абботу)

Вариант	Число самок	Соотношения		
		места имплант.	жизнеспос. эмбр.	общая гибель
		желтые тела	места имплант.	гибель желтых тел
600 р	18	30 ± 3,7	95,6 ± 5,4	71 ± 4,0
300+300 р	18	49 ± 4,0	91,7 ± 4,0	55 ± 4,5
300 р	20	69 ± 4,3	98,6 ± 2,3	31 ± 5,0
Контроль	17	0	0	0

Вскрытие самок, осемененных сперматозоидами, подвергшимися однократному и фракционированному облучению в дозе 600 р, показало, что различные способы воздействия радиации могут вызывать неодинаковое поражение сперматозоидов.

Из табл. 1 видно, что количество имплантационных мест относительно желтых тел беременности при однократном облучении составляло $30 \pm 3,7\%$, при дробном $49 \pm 4,0\%$. Различия статистически достоверны ($P < 0,001$).

Эмбриональные потери, устанавливаемые относительно желтых тел, были различны: при однократном облучении число погибших составляло $71 \pm 4,0\%$, при фракционированном $55 \pm 4,5\%$ ($P < 0,01$). Для определе-

Таблица 2

Оплодотворяющая способность сперматозоидов кроликов после однократного и фракционированного облучения

Вариант	Число осемененных самок	Число лопнувших фолликулов	Число извлеч. зигот				Число извлеч. яйцеклеток *
			4 бластомера	2 бластомера	слияние пронукл.	всего *	
600 р	9	98	10	85	1	96 (98+1,4)	2 (2+1,4)
300+300р	5	60	3	41	14	58 (98,3+1,6)	1 (1,7+1,6)
Контроль	3	35	—	28	5	33 (94,3+4,0)	2 (5,7+4,0)

* В скобках — в процентах.

ния дозовой зависимости проводилось однократное облучение сперматозоидов в дозе 300 р. Оказалось, что число имплантационных мест и жизнеспособных эмбрионов было в 2 раза больше, чем при однократном облучении в дозе 600 р. Эмбриональных потерь у самок, осемененных облученными сперматозоидами в дозе 300 р, было в 2 раза меньше, чем при дозе 600 р. Подсчет числа жизнеспособных эмбрионов относительно мест имплантации показал, что послеимплантационные потери во всех сериях опытов (в том числе и в контроле) очень малы. Выживаемость имплантированных зародышей была высокая, и не было обнаружено статистически достоверных различий во всех сериях опытов ($P > 0,05$). Следовательно, из приведенных результатов видно, что основная часть зародышей гибнет до имплантации.

В связи с этим не исключено, что в число регистрируемых доминантных леталей, индуцируемых радиацией, могут быть включены и неоплодотворенные, неспособные к развитию яйцеклетки. Число таких яйцеклеток может быть неодинаковым в различных вариантах опыта, а следовательно учтенная частота доминантных леталей будет завышенной. В специальных экспериментах была проверена оплодотворяющая способность сперматозоидов необлученных и облученных однократно и фракционированно в исследованных в опытах дозах. Эякуляты брались у тех же самок, которые были использованы в опытах. Искусственно осемененные самки через 26 час. вскрывались, производился подсчет лопнувших фолликулов. Из яйцеводов физиологическим раствором вымывались зиготы и яйцеклетки. Под микроскопом устанавливали число дробящихся и находящихся на стадии слияния пронуклеусов зигот и число неразвивающихся яйцеклеток. Результаты приведены в табл. 2.

При однократном облучении сперматозоидов в дозе 600 р оплодотворяемость яйцеклеток у самок, осемененных этими сперматозоидами, была высокая и достигала числа лопнувших фолликулов. Подавляющее большинство зигот раздробилось до 2, а некоторые даже до 4 бластомеров. Одна зигота находилась на стадии слияния пронуклеусов. Неоплодотворенных

яйцеклеток было только 2. Сходные результаты получены при фракционированном облучении сперматозоидов. Таким образом, оплодотворяемость яйцеклеток облученными сперматозоидами была высокая и не отличалась от контроля. Эти результаты подтверждают полученные нами ранее данные по оплодотворяющей способности сперматозоидов, облученных в широком диапазоне доз (16).

Это совпадает с наблюдениями Чанг (17), согласно которым у кроликов в норме число яйцеклеток, в которые проникают сперматозоиды, очень высокое и значительно превосходит таковое у мышей и крыс.

Приведенные результаты позволяют считать, что эмбриональные потери не связаны с неодинаковой оплодотворяющей способностью гамет самцов, вызванной двумя типами облучения — однократного и фракционированного. Одновременно эти результаты служили и проверкой имеющейся популяции самок, которые были использованы в опытах. Среди 17 самок (табл. 2) не оказалось ни одной, которая выделялась бы повышенным числом недоразвившихся яйцеклеток, что указывало бы на их биологическую неполноценность. Маловероятно, что такие самки в основном опыте избирательно встретились только в варианте с облучением 600 р однократно (табл. 1) и не встретились в варианте с фракционированным облучением.

Таким образом, исследования по сравнительному изучению однократного и фракционированного γ -облучения сперматозоидов кроликов свидетельствуют о том, что дробление дозы снижает повреждающий эффект радиации по сравнению с однократным облучением в той же дозе. Мы не считаем эти исследования законченными и не делаем окончательных выводов, однако проведенные эксперименты позволяют предполагать, что изменение форм подачи энергии может изменять ход радиационных повреждений и в зрелых половых клетках.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
г. Пущино Московской обл.

Поступило
15 VI 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. L. Russell, *Genetics*, 50, № 2 (1964). ² W. L. Russell, In: *Repair from Genetic Radiation Damage*, N. Y., 1963, p. 205. ³ W. L. Russell, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 48, 1724 (1962). ⁴ W. L. Russell, *Japan J. Genetics*, 40, 128 (1965). ⁵ M. F. Lyon, T. Morris, *Mut. Res.*, 8, № 1, 191 (1969). ⁶ W. Sheridan, *Mut. Res.*, 5, № 1, 163 (1968). ⁷ W. L. Russell, L. B. Russell, E. M. Kelly, *Intern. J. Radiobiol., Suppl.* 1, 311 (1960). ⁸ W. L. Russell, In: *Genetics Today, Proc. Intern. Congr. Genetics XI*, Hague, the Netherlands, 1963. ⁹ E. L. Guyenot et al., *Action mutagène de petites doses de rayons X. XII Confer. intern. des Nations Unies sur l'utilisation de l'énergie atomique a des pacifiques*, 1958. ¹⁰ M. L. Alexander, J. Bergendahl, *Genetics*, 47 (1), 71 (1962). ¹¹ B. P. Kaufman, *Cold Spring Harbor Symposia*, 9, 82 (1944). ¹² M. L. Alexander et al., *Genetics*, 49, № 1 (1964). ¹³ A. D. Bates, *Mut. Res.*, 5, № 1, 109 (1968). ¹⁴ F. H. Sobels, *Mut. Res.*, 8, № 1, 111 (1969). ¹⁵ Г. В. Нижник, В сборе. Экспериментальные работы по влиянию ионизирующих излучений на организм, «Наука», 1967, стр. 143. ¹⁶ Н. И. Нунди и, Г. В. Нижник, *ДАН*, 134, № 6, 1457 (1960). ¹⁷ M. C. Chang, D. M. Hunt, *Anat. Res.*, 142, 417 (1962).