

А. Г. КОНОПЛЯННИКОВ

**ВЛИЯНИЕ АКТИНОМИЦИНА D НА РАННЕЕ
ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК
В ОРГАНИЗМЕ ОБЛУЧЕННОГО ЖИВОТНОГО**

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 21 I 1972)

Раннее пострadiaционное восстановление клеток млекопитающих в культуре ткани было обнаружено при изучении эффекта фракционирования дозы облучения (¹, ²). Для описания динамики этого процесса была предложена модель репарации сублетальных радиационных повреждений с последующим продвижением клеток по циклу (²). Сходный характер изменения выживаемости клеток при фракционировании облучения в зависимости от величины временного интервала между последовательными дозами облучения был обнаружен и при облучении клеток в организме животного для так называемых стволовых клеток кроветворения (³), кишечника (⁴), кожи (⁵) и клеток перевиваемых опухолей (⁶, ⁷). Подобную зависимость наблюдали и в том случае, когда радиационный эффект оценивали не по выживаемости клеток, а по реакции организма, определяемой степенью повреждения лимитирующей клеточной системы, например по выживаемости мышей в костномозговом (⁸) и кишечном (⁹) диапазоне доз облучения. Предполагают, что в данном случае изменения выживаемости животного отражают динамику раннего пострadiaционного восстановления стволовых клеток лимитирующих клеточных систем.

Природа раннего пострadiaционного восстановления клеток до настоящего времени остается неясной. После открытия феномена репаративной репликации ДНК в клетках, подвергнутых воздействию у.-ф. света, ионизирующей радиации и алкилирующих агентов (¹⁰, ¹¹), и выявления его в клетках млекопитающих (¹²) были предприняты попытки связать репарацию сублетальных радиационных повреждений с этим процессом (¹³). В пользу подобного предположения говорят данные экспериментов, в которых изучали влияние ингибиторов различных биохимических процессов на репаративную репликацию ДНК и на репарацию сублетальных повреждений. По данным (¹⁴, ¹⁵), репарация сублетальных радиационных повреждений в клетках, культивируемых *in vitro*, может быть подавлена актиномицином D. В то же время показано (¹⁶, ¹⁷), что актиномицин D и другие препараты, способные связываться с ДНК (например кристалл-виолет, акрифлавин, профлавин), подавляют репаративную репликацию в клетках млекопитающих *in vitro*. Целью нашей работы было изучение влияния актиномицина D на раннее пострadiaционное облучение клеток в организме облученных животных.

Опыты проведены на белых нелинейных мышах-самцах, весом 20—22 г в возрасте около 3,5 мес. Для изучения динамики раннего пострadiaционного восстановления стволовых клеток кроветворения и кишечника использовали схему фракционированного облучения. Оценку радиационного повреждения стволовых клеток кроветворения проводили методом селезеночных эндокolonий. Мышей подвергали первому облучению в дозе 400 рад, опытным животным сразу после облучения вводили внутрибрюшинно 0,2 мл физиологического раствора с 5γ актиномицина D, а контрольным животным — только 0,2 мл физиологического раствора. В разные сро-

ки после первого облучения мышей подвергали повторному облучению в дозе 300 рад и забивали после 9 суток для подсчета количества селезеночных эндоколоний. В этом эксперименте на каждую временную точку брали по 15 животных. Для оценки степени тяжести радиационного повреждения популяции стволовых клеток кишечника использовали данные о выживаемости мышей после фракционированного облучения в суммарной дозе 1065 рад к 5 суткам, так как данные по выживаемости животных к этому сроку хорошо соответствуют результатам непосредственного подсчета клонов, образованных выжившими стволовыми клетками кишечника (⁴). Актиномицин D животным опытной группы также вводили после первого облучения из расчета 5 γ на 1 мышшь, контрольным мышам вводили

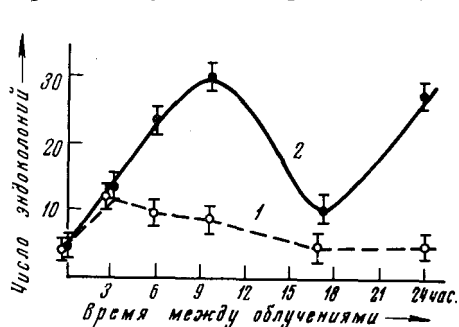


Рис. 1

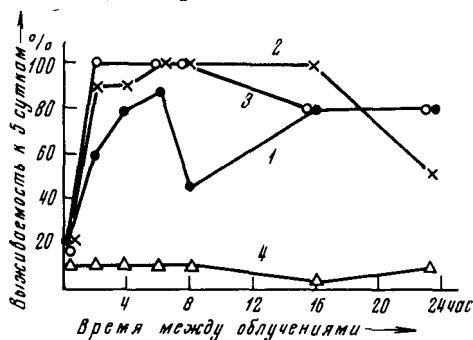


Рис. 2

Рис. 1. Влияние актиномицина D на динамику раннего пострадиационного восстановления к.о.е. у мышей, изучаемую методом фракционирования дозы облучения. 1 — введение актиномицина D, 2 — контроль. Схема облучения 400 + 300 рад. На каждую временную точку взято по 15 животных. Штрихи соответствуют значениям 95% доверительного интервала

Рис. 2. Изменение выживаемости мышей к 5 суткам при фракционированном облучении в дозе 1065 рад (1 — 355 + 710 рад, 2 — 532,5 + 532,5, 3 — 710 + 355 рад) и влияние актиномицина D на эффект фракционирования (4 — 532,5 + AD + 532,5 рад). На каждую временную точку взято по 20 животных

ли 0,2 мл физиологического раствора. Данные по выживаемости для каждой временной точки в этом опыте получены на 20 мышах.

Результаты эксперимента, посвященного изучению влияния актиномицина D на раннее пострадиационное восстановление колониеобразующих единиц (к.о.е.) кровотока, представлены на рис. 1. Введение актиномицина D сразу после первого облучения приводит к значительному ослаблению эффективности процесса восстановления, тестируемого по результатам второго облучения. В то время как максимум репарации для контрольных мышей наблюдается через 9,5 час. после облучения и к этому сроку выживает примерно в 7 раз больше к.о.е., чем при однократном воздействии суммарной дозы в 700 рад, у животных, которым введен актиномицин D, этот максимум приходится на 3 часа после облучения, когда повышение выживаемости к.о.е. не превышает ~3 раз. Необходимо отметить, что подобное действие актиномицина D не обязательно возможному токсическому его эффекту, так как применялась нетоксичная концентрация актиномицина D (¹⁸) и в нулевой точке времени при сопоставлении эффекта однократного облучения в дозе 700 рад и облучения по схеме 400 + 300 рад с перерывом на 5 мин. для введения актиномицина D не наблюдается различия в количестве к.о.е. По-видимому, подавление раннего пострадиационного восстановления к.о.е. в организме животного имеет ту же природу, что и при применении актиномицина D в опытах на клетках млекопитающих *in vitro*, и связано с подавлением нормального протекания процессов типа репаративной репликации ДНК в облученных клетках.

Сходные результаты получены и в эксперименте по изучению влияния актиномицина D на эффект фракционирования в диапазоне доз, приводящих к кишечной форме гибели мышей. Результаты этого опыта приведены на рис. 2. Если общая доза облучения в 1065 рад была разделена на две фракции, то характер зависимости выживаемости от величины интервала времени между фракциями напоминает подобную зависимость для облучения клеток. При этом с увеличением первой дозы облучения эффективность восстановления, по-видимому, возрастает. Если после первой дозы облучения мышам вводили актиномицин D, то раннее пострадиационное восстановление стволовых клеток кишечника, определяющих реакцию организма, по-видимому, подавлялось полностью. Более сильный эффект актиномицина D в отношении клеток кишечника при сравнении с клетками кроветворения, возможно, связан с тем, что по выраженности раннего пострадиационного восстановления первые значительно превосходят клетки других систем в организме животного (⁹). Это позволяет предположить, что механизм ингибирующего действия актиномицина D на раннее пострадиационное восстановление включает реакции конкурентного типа, например с репаративными ферментами за ДНК. Способность актиномицина D ингибировать раннее пострадиационное восстановление клеток, по-видимому, может быть привлечено для объяснения того факта, что при применении актиномицина D обычно резко утяжеляется радиационное поражение, например при лучевой терапии опухолей.

Научно-исследовательский институт
медицинской радиологии
Академии медицинских наук СССР
Обнинск Калужской обл.

Поступило
21 I 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ M. M. Elkind, H. Sutton, *Nature*, **184**, 1293 (1959). ² M. M. Elkind, G. F. Whitmore, *The Radiobiology of Cultured Mammalian Cells*, N. Y., 1967, p. 237.
- ³ J. E. Till, E. A. McCulloch, *Radiation Res.*, **18**, 96 (1963). ⁴ H. R. Withers, M. M. Elkind, *Radiology*, **91**, 5, 998 (1968). ⁵ H. R. Withers, *Radiation Res.*, **32**, 227 (1967). ⁶ S. Hornsey, G. Silini, *Radiation Res.*, **16**, 712 (1962).
- ⁷ J. A. Belli, F. J. Bonte, M. S. Rose, *Nature*, **211**, 662 (1966). ⁸ R. F. Kallman, G. Silini, *Radiation Res.*, **22**, 622 (1964). ⁹ S. Hornsey, S. Vatistas, *Brit. J. Radiol.*, **36**, 795 (1963). ¹⁰ D. Pettijohn, P. Hanawalt, *J. Mol. Biol.*, **9**, 35 (1964). ¹¹ R. H. Haynes, R. M. Baker, G. E. Jones, In: *Energetics and Mechanisms in Radiation Biology*, London—N. Y., 1968, p. 425. ¹² R. B. Painter, J. E. Cleaver, *Nature*, **216**, 369 (1967). ¹³ J. Kiefer, In: *Quantitativ. Biol. Metabol.*, Berlin—Heidelberg—N. Y., 1968, p. 164. ¹⁴ M. M. Elkind, G. F. Whitmore, T. Alescio, *Science*, **143**, 1454 (1964). ¹⁵ M. M. Elkind et al., In: *Recovery and Repair Mechanisms in Radiobiology*, Brookhaven Symp. Biol., **20**, 1967, p. 134.
- ¹⁶ J. E. Cleaver, *Radiation Res.*, **37**, 2, 334 (1969). ¹⁷ A. Tsuboi, T. Terasima, *Molec. Gen. Genetics*, **108**, 117 (1970). ¹⁸ W. W. Smith, et al., *Cancer. Res.*, **30**, 51 (1970).