

УДК 577.391 + 576.3 + 075.5

БИОФИЗИКА

Л. М. РОЖДЕСТВЕНСКИЙ, Е. Н. ЩЕРБОВА, Г. И. БЕЗИН

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ПОСТРАДИАЦИОННОЙ УБЫЛИ КЛЕТОК В РАДИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ОРГАНАХ КРЫС И МОРСКИХ СВИНОК

(Представлено академиком Г. М. Франком 7 II 1972)

Цель настоящего исследования состояла в оценке наличия и выраженности относительно ранней пострадиационной убыли клеток в органах с низким уровнем клеточной физиологической регенерации (радиорезистентных) при различных дозах облучения.

Из морфологических работ известно, что под влиянием достаточно больших доз ионизирующей радиации в упомянутых органах появляются распадающиеся и дегенерирующие клетки (¹⁻³). Однако эти сведения носят чисто описательный, неколичественный характер, и на их основе невозможно оценить долю погибающих при тех или иных дозах облучения клеток. К тому же в отношении конкретных доз облучения и органов данные о клеточной гибели противоречивы (^{3, 4}).

Количественное определение пострадиационного клеточного дефицита в радиорезистентных органах может послужить одним из критериев при оценке тяжести их поражения. Соответствующая информация может быть использована также при определении ЛД₅₀ для различных типов клеток в организме с целью построения количественной шкалы их радиочувствительности, а последнее необходимо для разработки теории клеточной радиочувствительности.

Опыты были проведены на белых беспородных крысах-самцах (200—230 г) и морских свинках-самцах (250—400 г). Они состояли в определении числа клеток в целом органе (поджелудочная железа, почка, надпочечник) или его анатомически стандартной части (сердечное ушко, доля печени, легкого) у интактных и облученных животных. С этой целью на основе принципов, изложенных в работах (^{5, 6}), была отработана методика, которая заключается в приготовлении гомогенной суспензии клеточных ядер указанных органов в 5% уксусной кислоте, их подсчете в камере Горяева и последующем расчете указанного выше показателя с учетом примененного разведения (число клеток принималось тождественным числу клеточных ядер, так как клетки исследованных органов, в подавляющем большинстве, одноклеточны). Детальное описание методики будет опубликовано отдельно.

Животных облучали тотально γ -лучами Co^{60} при мощности дозы 448—363 р/мин в дозах 700 и 10 000 р. Так как последняя вызывает у морских свинок гибель в течение суток, то для исследования этого вида животных через 3 суток после облучения в большой дозе была использована доза 5000 р. На каждый из сроков исследования, которые приведены на рис. 1, было поставлено по 2—3 опыта и использовано от 10—15 до 20—26 животных. Число клеток в органах интактных животных было определено на 62 крысах и 20 морских свинках.

Представленные на рис. 1 результаты опытов свидетельствуют о том, что под влиянием ионизирующей радиации во всех исследованных органах обоих видов животных, кроме надпочечника крысы, имеет место уменьшение числа клеток. Однако степень уменьшения и динамика про-

цесса в различных органах неодинаковы. Наибольшее снижение числа клеток у обоих видов животных зарегистрировано в легком. Достаточно выраженная убыль клеток, главным образом при больших дозах облучения, отмечена в поджелудочной железе, печени и миокарде морской свинки, в почке крысы. Уменьшение числа клеток, или тенденция к таковому, проявляется нередко уже через 7 час. после облучения и продолжается

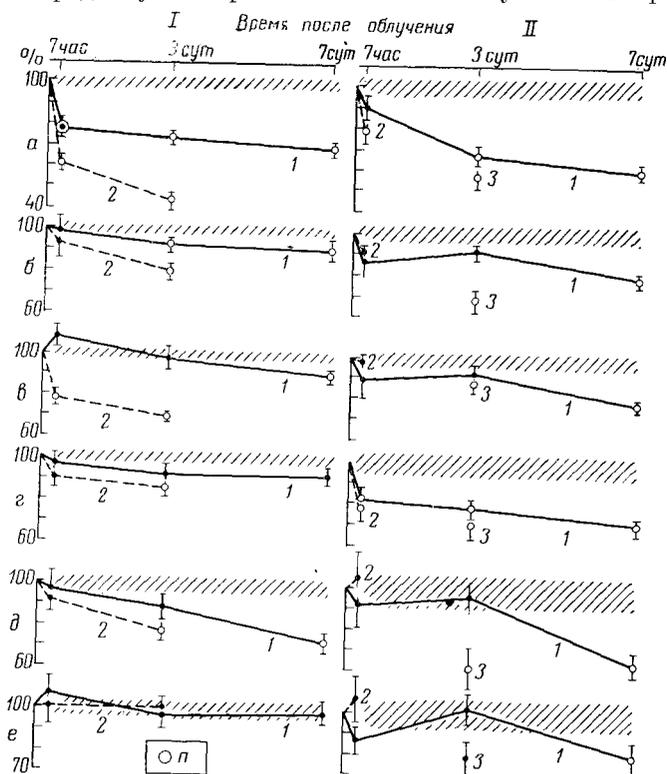


Рис. 1. Динамика числа клеточных ядер в легком (а), печени (б), почке (в), поджелудочной железе (г), миокарде (д) и надпочечнике (е) крыс (I) и морских свинок (II), облученных в дозах 700 (1), 10000 (2) и 5000 р (3). Заштрихована область ($M \pm m$) у интактных животных; n — значения, достоверно отличающиеся от нормы по критерию Вилкоксона при уровне значимости $P \leq 0,05$

при дозе 700 р, например, до 3 и 7 суток включительно. При этом не исключено, что в некоторых органах (в почке и миокарде крысы, в большинстве исследованных органов морской свинки) прогрессирующее снижение числа клеток может наблюдаться и после 7 суток. С увеличением дозы облучения убыль клеток, как правило, возрастает в большей или меньшей степени. Однако для проявления эффекта дозы требуется какое-то время. Через 7 час. после облучения этот эффект у морских свинок еще не выявляется, а у крыс обнаруживается только в легком и почке. Можно, наконец, отметить, что при одинаковой дозе 700 р уменьшение числа клеток в большинстве органов морской свинки выражено сильнее, чем в соответствующих органах крысы. Это означает, что более высокая радиочувствительность морской свинки выявляется и на уровне некоторых относительно радиорезистентных органов.

Таким образом, снижение числа клеток в исследованных органах крыс и морских свинок зависит от срока исследования и дозы облучения, но эта зависимость имеет органо-видовую специфику. Можно думать, что дозово-временная характеристика процесса убыли клеток определяется

радиочувствительностью клеток органа и относительной величиной каждой клеточной популяции в общей их совокупности.

Сам факт обнаружения и количественной оценки пострадиационной убыли клеток в относительно радиорезистентных органах создает, по нашему мнению, новые возможности в изучении органной и видовой радиочувствительности. Относительная радиорезистентность этих органов становится в какой-то степени измеримой. Появляется возможность дифференциации всех органов по радиочувствительности на основе единого показателя. Правда, окончательный успех в проведении такой дифференциации, по-видимому, невозможен без привлечения показателя, отражающего функциональные возможности органов.

В морфологических работах отмечается, что некробиотические изменения в относительно радиорезистентных органах приходится в основном на период разгара лучевой болезни (^{1, 3}). Используемые в нашей работе сроки исследования в пределах 3 суток после облучения в дозе 700 р относятся к более раннему периоду. Однако в это время в ряде органов уже выявляется убыль клеток. Напрашивается предположение о том, что в процессе приготовления суспензии могут уничтожаться ядра обреченных на гибель клеток. В таком случае возникает вопрос и о возможности разрушения ядер клеток, способных к восстановлению. Речь идет о сущности процессов, лежащих в основе наблюдаемого нами феномена: реализованная клеточная гибель или пониженная устойчивость поврежденных радиацией клеточных ядер к механическому и химическому воздействиям? С целью ответа на поставленный вопрос на крысах были проведены два опыта, в которых наряду с основной методикой были использованы некоторые ее модификации: более длительное время гомогенизации органов, подсчет клеточных ядер через несколько часов после приготовления суспензии, замена 5% уксусной кислоты на 0,9% раствор NaCl.

Во всех вариантах с применением уксусной кислоты убыль клеток в органах через 3 суток после облучения в дозе 10 000 р была практически одинаковой. При использовании физиологического раствора аналогичный результат был получен для тех органов, в суспензиях которых при подсчете клеточные ядра были отдифференцированы от эритроцитов. Сходство результатов, полученных с помощью более и менее щадящих способов приготовления суспензии, позволяет полагать, что отмеченная нами убыль клеток в органах является следствием их гибели. При этом речь идет, скорее всего, о так называемой интерфазной гибели. Этот термин используется в радиобиологии для обозначения гибели непосредственно самой облученной клетки — гибели, для реализации которой не требуется прохождения митоза.

В настоящее время понятие интерфазной гибели не включает в себя представление о каком-либо конкретном механизме ее осуществления, не ясны и сроки ее реализации для различных клеточных элементов. Результаты настоящего исследования позволяют думать о том, что интерфазная гибель клеток медленно обновляющихся тканей может происходить в более отдаленные сроки, чем аналогичная гибель более радиочувствительных клеток быстро обновляющихся тканей. В последних (например, в костном мозге и лимфоидной ткани) интерфазная гибель клеток реализуется преимущественно через 4—7 час. после облучения (^{7, 8}).

Если в радиочувствительных органах дифференциация причин клеточной гибели идет главным образом между интерфазной и митотической ее разновидностями (⁸⁻¹¹), то в относительно радиорезистентных медленно обновляющихся органах более или менее реальной альтернативой интерфазной гибели в выбранные нами сроки исследования может быть, по-видимому, лишь «вторичная» гибель клеток, обусловленная нарушениями микроциркуляции крови как функционального, так и органиче-

ского характера. Однако провести желаемое разграничение в количественном плане в настоящее время не представляется возможным.

Следует, наконец, отметить, что хотя речь идет о гибели клеток в радиорезистентных органах, в указанный процесс могут вовлекаться не только собственные клетки этих органов, но и клетки соединительной и особенно лимфоидной ткани. Только после выяснения их участия в реализации феномена клеточной убыли в радиорезистентных органах и исключения «вторичной» гибели клеток появится возможность точной оценки радиочувствительности различных паренхимных клеточных элементов по тесту интерфазной гибели. Решению указанной задачи может способствовать сочетание метода количественной оценки общего числа клеток с классическими морфологическими методами исследования.

Институт биофизики
Министерства здравоохранения СССР
Москва

Поступило
7 II 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. А. Краевский, Очерки патологической анатомии лучевой болезни, М., 1957. ² В. Блюм, М. Блюм, В кн.: Радиобиология, М., 1960, стр. 318. ³ Руководство по патологической анатомии, 8, М., 1962, кн. 2. ⁴ Л. Ф. Семенов, Изменение тканевых нуклеопротеидов при действии рентгеновых лучей на организм. Кандидатская диссертация, 1951. ⁵ J. M. Mantz, C. R. Soc. biol., **151**, 11 (1957—1958). ⁶ G. Weber, A. Cantero, Endocrinology, **61**, 701 (1957). ⁷ З. Бак, П. Александр, Основы радиобиологии, М., 1963, стр. 239. ⁸ Т. А. Федорова, О. Я. Терещенко, В сборн. Действие понижующей радиации на белки и нуклеиновые кислоты. Молекулярные механизмы защиты, Киев, 1970, стр. 5. ⁹ Г. П. Груздев, Проблема поражения кроветворной ткани при острой лучевой патологии, М., 1968, стр. 37. ¹⁰ Э. Я. Краевский, И. М. Шапиро и др., В кн.: Первичные и начальные процессы биологического действия радиации, М., 1963, стр. 177. ¹¹ T. T. Puck, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **52**, 152 (1964). ¹² С. П. Ярмоленко, Противолучевая защита организма, М., 1969, стр. 53.