Э. Д. СТЕПАНЯН, Р. А. ПЕТРОСЯН, Л. П. ГРИГОРЕНКО, Э. Г. ЗАХАРЯН

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ НА ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ Р.-Э. СИСТЕМЫ

В предыдущих наших исследованиях [10] было установлено, что митотическая активность и хромосомные нарушения в клетках костного мозга являются более чувствительными показателями действия рентгеновских лучей на организм, нежели функциональные изменения фагоцитарной способности р.-э. системы. Причем цитологические изменения в костном мозгу зависят от дозы облучения и в определенных случаях коррелируют с фагоцитозом.

В этой связи еще ранее нами [9] было обнаружено, что радиочувствительность организма обуславливается также и иммунобиологическим состоянием р.-э. системы. Однако вопрос о характере взаимоотношений пострadiационных цитологических изменений костного мозга с иммунобиологическим состоянием р.-э. системы, а также с радиочувствительностью организма оставался открытым. Между тем изучение затронутого вопроса создало бы научные основы для рационального изыскания высокоэффективных средств и позволило бы направленно изменить радиочувствительность организма путем преимущественного воздействия на иммунобиологические функции р.-э. системы.

Исходя из этого, в настоящих исследованиях преследовалась цель выяснить одновременное влияние рентгеновских лучей на митотическую активность и хромосомные нарушения клеток костного мозга, а также радиочувствительность организма в зависимости от различного иммунобиологического состояний р.-э. системы.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах весом 100—150 г. В давленных препаратах костного мозга, окрашенных ацеторсеином, определялись в процентах митотическая активность и число клеток с хромосомными нарушениями. Митотическая активность вычислялась из 10—15 тысяч подсчитанных клеток, а хромосомные нарушения (мосты, ацентрические фрагменты) определялись из 300—500 клеток на стадиях анафазы и телофазы.

Фагоцитарная способность р.-э. системы изучалась конгорот-пробой. Для этого крысе внутривенно инъецировался 0,2% раствор конгорота в дозе 0,4 мл/100 г. Спустя 4 и 30 мин после этого пункцией сердца

получали две порции крови и в них электрофотокolorиметрически определялись соотносительные концентрации конгорота по методике, ранее разработанной нами на кроликах [8]. Процентное отношение содержания красителя второй порции сыворотки крови к первой выражалось конгорот-индексом. Повышение индекса указывало на угнетение фагоцитоза, а понижение—на стимуляцию его.

Для изменения исходного состояния клеток костного мозга и фагоцитарной способности р.-э. системы использовались адреналин, пилокарпин и бактериальный антиген. При этом мы исходили из предыдущих наших исследований [9], где было установлено, что при возбуждении симпатических нервов и угнетении фагоцитоза радиоустойчивость организма чаще понижается, а при активизации парасимпатикуса и стимуляции фагоцитоза она, наоборот, повышается.

Стало быть, применяя в отдельности адреналин и пилокарпин, избирательно действующие на оба отдела вегетативной нервной системы (ВНС), представлялась возможность направленно изменять радиочувствительность организма путем воздействия на иммунобиологические функции р.-э. системы. Применение же бактериального антигена обособывалось, во-первых, тем, что парентеральное его введение вызывает глубокие функциональные и структурные изменения в элементах р.-э. системы. Во-вторых, литературные [4, 5, 7, 12], а также наши экспериментальные данные свидетельствовали о том, что предварительная вакцинация неспецифически повышает устойчивость животных к поражающему действию ионизирующей радиации.

Таким образом, нейрогенными препаратами мы стремились преимущественно вызвать функциональные, а бактериальным антигеном—и морфологические изменения в элементах р.-э. системы.

Испытываемые средства использовались как в отдельности, так и в сочетании с облучением. В опытах 1-ой и 2-ой серий соответственно адреналин (0,1 мг/100 г) и пилокарпин (1 мг/100 г) инъецировались крысам подкожно за 10—15 мин до рентгенизации их на аппарате РУМ-11 в дозах 300 и 550 р. В указанных сериях митотическая активность клеток костного мозга крыс определялась через 3 часа и через 1,4 и 8 дней после облучения. Тут мы сознательно ограничились изучением только митотической активности, поскольку в предварительных опытах было установлено, что применяемые нами нейрогенные препараты не вызывают каких-либо существенных отклонений в уровне хромосомных нарушений. В этих же условиях на других крысах изучалось комбинированное влияние вегетотропных веществ и облучения (550 р) на фагоцитарную способность р.-э. системы.

Как видно, подобными экспериментами мы пытались выяснить значение исходного функционального состояния р.-э. системы в эффектах действия рентгеновских лучей на митотическую активность клеток костного мозга крыс.

Результаты исследования. Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что облучение крыс в дозе 300 и особенно 550 р вызывает через

3 час. резкое угнетение митотической активности. Однако спустя сутки после облучения животных в дозе 300 р наблюдается тенденция к ее нормализации, а в дозе 550 р угнетение деления клеток продолжается. В последующие сроки исследования митотическая активность интенсифицируется. Синхронно с этим через 3 час. после облучения крыс в дозе 300 р фагоцитоз подавляется, а на 4 и 8 сутки нарастает.

Таблица 1

Комбинированное влияние нейротропных веществ и рентгеновского облучения на митотическую активность клеток костного мозга и фагоцитарную способность р.-э. системы

Серия	Фактор воздействия	Доза облучения, р	Количество животных	Митотическая активность				Количество животных	Конгорот-индекс				
				норма	после воздействия через				норма	после воздействия через			
					3 часа	1 дн.	4 дн.			8 дн.	3 часа	4 дн.	8 дн.
1	Облучение	300	5	1,42	0,83	1,25	1,98	1,74	10	51	67	34	31
	Облучение	550	10		0,60	0,62	1,80	2,00		54	70	41	44
	Адреналин		3		1,20	1,30	1,70	—	5	57	72	55	60
	Адреналин+ облучение	300	3		0,47	1,27	2,60	1,82		—	—	—	—
2	Адреналин+ облучение	550	4		0,60	0,70	1,15	—	5	55	43	58	68
	Пилокарпин		3		1,21	1,27	1,93	—		50	35	51	59
	Пилокарпин+ облучение	300	3		0,90	1,40	2,50	2,00		—	—	—	—
	Пилокарпин+ облучение	550	4		0,40	0,63	1,10	1,00	5	47	31	53	44

Примечание: Средняя квадратическая ошибка ($\pm m$) митотической активности колебалась в пределах $\pm 0,001$ — $\pm 0,003$, а конгорот-индекса $\pm 0,22$ — $\pm 2,57$.

Таким образом, результаты изложенных опытов вновь подтвердили ранее [10] сделанное нами заключение о том, что митотическая активность костного мозга коррелирует с фагоцитарной способностью р.-э. системы облученных животных.

Что же касается влияния нейротропных препаратов, то, как видно из табл. 1, спустя 3 час. после инъекции адреналина и пилокарпина митотическая активность костного мозга проявляет тенденцию к угнетению; в последующие дни отмечается едва заметное нарастание деления клеток. При этом инъекция адреналина кратковременно угнетала, а пилокарпина—стимулировала фагоцитоз. Однако через 3 час. после комбинированного воздействия адреналина с радиацией в дозе 300 р пост-радиационное угнетение митотической активности усугубляется, через сутки приближается к норме и в дальнейшем усиливается. При введении адреналина с последующим облучением крыс в дозе 550 р митотическая активность клеток костного мозга в общем падает, тогда как фагоцитоз, напротив, через 3 часа стимулируется, а на 8 день угнетается.

Предварительное введение пилокарпина крысам и последующее облучение их в дозе 300 р (табл. 1) несколько повышает митотическую активность. Применение же пилокарпина совместно с облучением в дозе 550 р усиливает пострадиационное угнетение митозов. При этом фагоцитоз стимулировался так же, как и при инъекции одного пилокарпина. Создается впечатление, что начальное введение пилокарпина снимает последующее угнетающее действие радиации (550 р) на фагоцитоз и несколько усиливает торможение митотической активности костного мозга.

По-видимому, при действии лишь одной радиации наглядно выступает взаимосвязь между процессом деления клеток и фагоцитозом, тогда как при инъекции нейрогенных препаратов эта связь искажается и даже нарушается.

Противоречивые литературные сведения [1, 3, 6, 11] о влиянии вегетативной нервной системы на митотическую активность не позволяют пока объяснить истинную причину однотипной клеточной реакции на воздействие адреналина и пилокарпина.

Более интересные результаты получены при комбинированном применении бактериального антигена и рентгеновского облучения. Здесь мы стремились выяснить степень влияния предварительного изменения иммунобиологического состояния р.-э. системы на пострадиационные цитологические сдвиги в клетках костного мозга и их совместное воздействие на радиочувствительность организма.

Таблица 2

Влияние бактериального антигена и рентгеновского облучения на цитологические изменения клеток костного мозга и выживаемость белых крыс

Серия	Фактор воздействия	Доза облучения, р	Количество животных	Митотическая активность/хромосомные нарушения				Процент выживаемости	
				норма	после воздействия через				
					3 час.	1 день	4 день		8 день
3	Облучение	300	5	1,42/3,40	0,83/59,1	1,25/20,80	1,98/2,50	1,74/1,38	
	Антиген				1,50/2,90	1,63/1,70	3,00/3,30	3,10/2,10	
4	Антиген и через 10 мин облучение	300	3		0,65/—	1,60/28,60	4,00/1,90	2,70/2,60	
	Антиген и через 4 дня облучение								
5	Антиген и через 8 дней облучение	300	3		2,20/32,0	2,20/9,20	2,80/0,40	3,00/1,80	
	Облучение								
6	Облучение	750	20		0,80/—	0,78/50,40	2,10/2,20	2,60/1,30	10
	Антиген и через 10 мин облучение								
7	Антиген и через 4 дня облучение	750	15			1,76/31,0	2,44/2,90	3,20/3,40	86
	Антиген и через 4 дня облучение				1,18/—	1,50/52,30	2,00/3,70	2,21/2,30	47

Примечание: Средняя квадратическая ошибка ($\pm m$) митотической активности колебалась в пределах $\pm 0,001$ — $\pm 0,004$, а [хромосомных нарушений $\pm 0,02$ — $\pm 0,2$.

Для изменения защитно-физиологического состояния р.-э. системы крысам внутривенно инъецировалось по 0,25 мл/100 г убитого бруцеллезного антигена, содержащего 10 млрд бактериальных тел в 1 мл физиологического раствора, причем в опытах 3-ей серии за 10 мин, в 4-ой— за 4 дня, в 5-ой— за 8 дней до облучения их в дозе 300 р. Учитывая, что бактериальный антиген вызывает не только функциональные, но и глубокие морфологические изменения в р.-э. системе, в костном мозгу мы одновременно изучали митотическую активность и частоту хромосомных повреждений.

Из табл. 2 видно, что облучение через 3 часа приводит к резкому подавлению деления клеток и повышению частоты хромосомных нарушений. Через 24 часа клеточные показатели проявляют тенденцию к нормализации. На 4 и отчасти на 8 день после облучения митотическая активность интенсифицируется без существенных изменений частоты хромосомных повреждений. Важно подчеркнуть, что в поздние сроки после облучения и особенно после применения бактериального антигена митотическая активность клеток костного мозга прогрессивно нарастала. Причем умеренная пострадиационная стимуляция деления клеток наступала после резкого повышения уровня хромосомных нарушений. Что касается бурной поствакцинальной активизации деления клеток, то она возникала без предшествующего взлета хромосомных повреждений.

Несмотря на эти различия, в общем можно полагать, что в основе действия ионизирующей радиации и бактериального антигена на митотическую активность и хромосомные нарушения клеток костного мозга лежат сходные механизмы. При этом не исключена возможность, что проникающее излучение действует на костный мозг не только прямо, но и косвенно, путем изменения антигенных свойств белков организма. По-видимому, образующиеся после облучения аутоантигены на процесс деления клеток оказывают такое же влияние, как и введение бактериального антигена.

Далее, если признать, что одним из условий нормального протекания митозов является также состояние хромосомных структур, то можно развить дальше высказанные нами по этому вопросу соображения [10]. Можно полагать, что чрезмерные хромосомные нарушения, возникающие в клетках костного мозга в результате облучения или антигенного раздражения, в дальнейшем становятся стимулом изменения деления клеток. При усилении деления клеток, вероятно, происходит восполнение пострадиационного клеточного дефицита и освобождение клеток от поврежденных субклеточных структур, аналогично тому как элиминируются поврежденные радиацией фрагменты хромосом посредством усиления митотической активности клеток [2, 13].

Факт стимуляции митотической активности бактериальным антигеном без предварительного повышения числа хромосомных нарушений нам представляется возможным объяснить тем, что и лучевой и бактериальный агенты, действуя врозь, в поздние сроки повышают митотическую активность клеток костного мозга. Отсюда можно допустить, что

ионизирующая радиация вызывает преимущественно необратимые, а бактериальный антиген—обратимые повреждения хромосом. Поэтому, вероятно, пострадиационные повреждения хромосом улавливаются обычными цитологическими методами исследования, что не удается в отношении поствакцинальных хромосомных нарушений. И только косвенно, по изменению митотической активности клеток представляется возможность судить о наличии хромосомных нарушений после воздействия бактериального антигена. Очевидно, митотическая активность клеток выступает тут своеобразным биологическим индикатором, отражающим явные или скрытые хромосомные нарушения.

В других опытах (табл. 2) выяснилось, что облучение животных в дозе 300 р через 10 мин после внутривенной инъекции бактериального антигена не вызывает существенных морфологических изменений по сравнению с нормой (3-я серия). Иммунизация животных за 4 дня до облучения оказывает четкий радиозащитный эффект в отношении митотической активности и хромосомных нарушений клеток костного мозга (4-я серия). Действительно, спустя 3 часа после рентгенизации иммунизированных животных митотическая активность повышается более чем в два раза. В дальнейшем процесс деления клеток интенсифицируется подобно одной лишь вакцинации.

Необходимо отметить, что в условиях сочетанного воздействия антигена и облучения число клеток с хромосомными нарушениями гораздо меньше, нежели при действии одной радиации. Приблизительно такая же картина наблюдалась при облучении животных через 8 дней после вакцинации (5-я серия).

Как видно, предварительная вакцинация животных бактериальным антигеном в значительной мере предотвращала последующее воздействие радиации (300 р) на цитологические показатели костного мозга.

Выяснив радиозащитное влияние предварительной вакцинации, следовало бы в дальнейшем определить характер взаимоотношений исследуемых клеточных показателей костного мозга с радиочувствительностью организма. Для разрешения затронутого вопроса в опытах 6-ой серии облучение производилось через 10 мин, а в 7-ой—через 4 дня после внутривенной инъекции того же количества антигена. Вакцинированные и интактные животные облучались в дозе 750 р. Причем на одной группе крыс в различные сроки после совместного воздействия антигена и радиации изучались цитологические изменения в костном мозгу, а на другой—выживаемость облученных животных в течение тридцатидневного наблюдения. На каждый срок цитологических исследований использовались по 3—4 крысы, а на выживаемость—по 15—20 крыс.

В исследованиях выяснилось (табл. 2), что на следующий день после комплексного воздействия бактериального антигена и радиации (6-ая серия) митотическая активность почти вдвое повышается, а число хромосомных нарушений, наоборот, значительно понижается по сравнению с одним только облучением животных. В дальнейшем митоз прогрессивно нарастает без заметного изменения уровня хромосомных по-

вреждений. Облучение же крыс через 4 дня после иммунизации (7-ая серия) вначале слабо возбуждает деление клеток, не изменяя частоту пострадиационных хромосомных нарушений. Затем оба клеточных показателя варьируют в рамках нормы. В этих условиях выживаемость животных, облученных через 10 мин после вакцинации (6-ая серия), достигала 86%, а спустя 4 дня (7-ая серия)—47%.

Таким образом, предварительная иммунизация животных не только ослабляет угнетающее действие радиации на митотическую активность и хромосомные нарушения, но и значительно повышает радиорезистентность организма. Поскольку радиостойчивость организма бывала тем выше, чем раньше после вакцинации животные облучались, то можно было бы предположить, что обуславливается она не столько гуморальными, сколько клеточными механизмами, среди которых элементы р.-э. системы занимают, вероятно, одно из важных мест. Предпочтение отдается клеточным механизмам потому, что выживаемость у иммунизированных за 4 дня до облучения животных была ниже, чем за 10 мин, т. е. когда вероятность образования антител в первом случае намного больше, нежели во втором.

Сопоставляя цитологические показатели с данными выживаемости, следует предположить, что радиочувствительность организма связана с митотической активностью клеток костного мозга, поскольку усиление ее активности у иммунизированных и облученных животных сопровождалось повышением выживаемости. По-видимому, противолучевой эффект, вызванный предварительной иммунизацией, обуславливается не столько прямым защитным влиянием бактериального антигена, сколько усилением репаративной способности организма и появлением новых клеточных популяций, более устойчивых к пострадиационным воздействиям. Об этом говорят и данные, полученные при совместном применении вегетотропных ядов и облучения в дозе 300 р.

Рассматривая взаимоотношения между радиочувствительностью и клеточными показателями костного мозга, мы отнюдь не забывали, что общая реактивность организма является интегральным выражением реактивности отдельных органов и систем. И только в аналитическом плане мы были вынуждены отвлечься от них, чтобы всецело уделить свое внимание клеткам костного мозга, входящим в составную часть р.-э. системы.

Институт зоологии
АН АрмССР

Поступило 5.II 1969 г.

Է. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Լ. Պ. ԳՐԻԳՈՐԵՆԿՈ, Է. Գ. ԶԱԲԱՐՅԱՆ

ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՍԿՐԱՇՈՒԾԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՑԻՏՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ՝ ԿԱԽՎԱԾ Ռ.—Է. ՍԻՍՏԵՄԻ ԽՄՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԿԱՆ ՎԻՃԱԿԻՑ

Ա մ փ ո փ ու մ

Պարզվել է, որ ճառագայթահարված սպիտակ առնետների ոսկրածուծի բջիջների միթոտիկ ակտիվությունը փոփոխվում է ռետիկուլո-էնդոթելիալ սխտեմի ֆազոցիտային ընդունակությանը զուգահեռ: Այնուհետև բացահայտվել է, որ ադրենալինի և պիրոկարպինի զատ-զատ գործադրումը սկզբում քիչ ճնշում է միթոզը, իսկ հետո աննշան չափով խթանում նրան:

Սակայն ադրենալինի և պիրոկարպինի ներարկումը չի արգելակում ճառագայթահարման ճնշող ազդեցությունը միթոտիկ ակտիվության վրա: Չնայած դրան, նշված պրեպարատներն ուժեղացնում են միթոզների վերականգնումը, որոնք խախտվել էին կենդանիների փոքր (300 ու) և ոչ թե մեծ (550 ու) դողաներով ճառագայթահարելու հետևանքով:

Հետագայում պարզվեց, որ ոսկրածուծի միթոտիկ ակտիվության ու քրոմոսոմային խանգարումների վրա ռենտգենյան ճառագայթների և բակտերիալ անտիբիոտիկների (հակածին) ազդեցության հիմքում ընկած են միանման մեխանիզմներ: Հավանաբար, դրանով է բացատրվում այն երևույթը, որ կենդանիների իմունացումը թուլացնում է ռադիացիայի հետագա ներգործությունը ոսկրածուծի ցիտոլոգիկ ցուցանիշների վրա և բարձրացնում օրգանիզմի ընդհանուր ռադիոդիմացկունությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алов И. А. Очерки физиологии митотического деления клеток. 13, М., 1964.
2. Баракина Н. Ф. ДАН СССР, 114, 2, 285—288, 1957.
3. Захаров М. К. Бюлл. экспер. биол. и мед., 5, 63—66, 1956.
4. Клемпарская Н. Н. Тр. Всес. конф. по мед. радиологии, 153—156, М., 1957.
5. Клемпарская Н. Н., Раева Н. В. Радиобиология, 1, 134—141, 1962.
6. Пужак Х. Я. Дисс., Рига, 1959.
7. Львицына Г. М. Бюлл. радиацион. мед., 128—133, 1957.
8. Степанян Э. Д. Лабораторное дело, 2, 25—28, 1963.
9. Степанян Э. Д., Петросян Р. А., Григоренко Л. П. Биологический журнал Армении, 20, 1, 1967.
10. Степанян Э. Д., Петросян Р. А., Григоренко Л. П., Захарян Э. Г. Биологический журнал Армении, 22, 4, 1969.
11. Царева В. Ц. Бюлл. экспер. биол. и мед., 115—117, 1960.
12. Шевцова З. В. Автореферат. Дисс., М., 1961.
13. Curtis H., Tilley S., Crowley C. Radiat. Res., 22, 730—734, 1964.