

УДК 616—006—073.75

Б. А. ЕЗДАНЯН, К. Р. МАНВЕЛЯН

## О ВЛИЯНИИ РЕНТГЕНОВЫХ ЛУЧЕЙ НА ДЕСТРУКТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЭРЛИХА

Асцитная опухоль Эрлиха была частым объектом исследования в относительно ранних работах, посвященных радиобиологическим вопросам опухолевого роста [11—13, 15]. В этих работах, как правило, применялись большие дозы рентгеновых лучей, действие которых сопровождалось легко уловимыми морфологическими изменениями опухолевых клеток. Влияние малых доз рентгенооблучения на опухолевые клетки привлекло внимание исследователей в основном в связи с изучением механизма действия облучения и попытками найти точку приложения ионизирующей радиации в клетке.

Известно, что наиболее чувствительным субстратом к действию рентгеновых лучей является ядерное вещество клетки. Одна из двух основных функций этого вещества, легко регистрируемая при изучении митотического процесса, стала, естественно, наиболее частым предметом исследования.

При изучении влияния малых доз рентгенооблучения на опухолевую клетку представляют особый интерес работы, в которых обращается внимание на тонкие цитологические сдвиги. В ряде работ [16] по морфологии митозов в асцитной опухоли Эрлиха под влиянием общего облучения животных сублетальными дозами (250 р) морфологических изменений хромосом не выявлено, хотя наблюдались временные сдвиги в митотической активности клеток. По данным Беккера и др. [10], однократное общее облучение животных с опухолью Эрлиха в дозе 100 р почти не действует на митотический индекс. Интересны наблюдения авторов о появлении при этом в большом количестве (каких-то фельгенположительных телец, названных ими «побочными ядрами», которые присутствуют в незначительном количестве (около 1%) в необлученном асците и образуются из разорванных хромосом или их частей. Число этих телец сильно увеличивается только при облучении малыми дозами.

Особый интерес для нас представляют данные Рейхе [14], изучавшего действие рентгенооблучения дозой от 35 до 500 р на цитоморфологию асцитных клеток опухоли Эрлиха. Он обнаружил значительное увеличение числа клеток, подвергающихся необычным изменениям при облучении дозой в 200 р. В последние годы в литературе появились

также данные о том, что малые дозы рентгенооблучения могут оказать стимулирующее действие на синтетические процессы в клетке [9].

В настоящем сообщении сделана попытка в экспериментах по рентгенооблучению асцитной опухоли Эрлиха получить доказательство специфического характера так называемого «взрывного» типа деструкции опухолевых клеток, о котором сообщалось ранее в работе Б. А. Езданяна [4]. Настоящая работа выполнена на белых беспородных мышцах—самцах и самках весом в 18—20 г. В 1-й серии опытов асцитная опухоль Эрлиха в стерильных условиях извлекалась при помощи шприца из брюшной полости мышшей на 8—9-й день после прививки в стерильную пробирку, которая закрывалась пробкой и облучалась на аппарате РУМ-11 для глубокой рентгенотерапии. Технические условия облучения: напряжение—185 кв, мощность дозы—60 р/мин., фокусное расстояние—30 см, фильтры—0,5 мм Си и 1 мм Аl. Доза облучения—150 р. Эффективность этой дозы для стимуляции деструкции асцитных опухолевых клеток Эрлиха по «взрывному» типу была выявлена нами после проведения предварительных поисковых опытов. Сейчас же после облучения из асцитной опухоли готовились мазки для цитологических исследований, а остальная часть опухоли по 0,3 мл прививалась группе интактных животных. Через определенное время у одной из мышшей, давшей наиболее выраженный асцит, извлекалась опухоль, снова облучалась *in vitro* дозой в 150 р и прививалась новой группе интактных животных. Остальные животные этого пассажа забивались, и из их опухолей готовились мазки для цитологических исследований. Та же самая процедура повторялась при всех остальных пассажах.

Во 2-й серии опытов на 8—10-й день после прививки облучалось животное с опухолью дозой в 150 р (технические условия облучения те же). Сразу после облучения животное усыплялось эфиром, шприцем отсасывалось определенное количество асцитической жидкости и по 0,3 мл вводилось группе интактных мышшей. Через 8—10 дней из этой группы отбирали одно животное, облучали снова дозой в 150 р, отсасывали определенное количество опухоли и опять вводили группе интактных мышшей. Подобным образом было произведено пять серийных рентгенооблучений. Каждый раз остальные животные забивались, и от всех готовились мазки для цитологических исследований.

Во всех извлекаемых опухолях определялось количество клеток в камере Горяева в одном мл и процент нежизнеспособных клеток при помощи окраски нефиксированных опухолевых клеток 0,05%-ым раствором эозина (по методу Шрека). Одновременно определялось количество всей асцитической жидкости в брюшной полости мышшей в мл.

Согласно нашим исследованиям, асцитные клетки в исходных опухолях были представлены клетками, свободно расположенными в асцитической жидкости, округлой формы, диаметром 10—20 мк, с ровными краями. В мазках, окрашенных метилгрюн-пиронином, их ядра, зеленовато-голубого цвета с нежными глыбками хроматина, занимали

большую часть клетки. Цитоплазма расположена вокруг ядра в виде ободка розового цвета с определенным количеством пиронинофильных рибонуклеопротеидных гранул.

Изучение мазков, приготовленных в I-й серии опытов из опухолей сразу после облучения, показало, что наблюдаемая картина укладывается в рамки исходного состояния для данной опухоли. Изменения же в популяциях опухолевых клеток под влиянием облучения нами были замечены после первого же пассажа.

В табл. I приведены результаты дифференциального подсчета клеточных элементов в асцитных опухолях, отражающие цитологические изменения в процессе пассирования опухоли после серийного рентгенооблучения *in vitro* при дозе 150 p ( $M \pm m$ , p).

Таблица I

Пассаж	Количество животных	Митозы (без профазы)	I—II типы деструкции	III тип деструкции	% неопуховых элементов
0	10	1,9±0,7	11,5±1,3	2,3±0,5	8,7±0,6
I	12	2,6±0,35 p<0,05	11,0±2,4 p>0,5	6,2±1,5 p<0,05	12,8±1,4 p<0,02
II	10	2,8±0,4 p<0,05	3,3±0,7 p<0,01	6,6±1,3 p<0,01	13,9±1,7 p<0,05
III	7	0,3	6,0±3,2 p>0,1	30,3±5,5 p<0,01	16,6±3,1 p<0,05

Из данных таблицы видно, что после сравнительно небольшого увеличения средней арифметической величины «взрывного» типа деструкции в первых двух пассажах (в интактных опухолях  $2,3 \pm 0,5$ , в I и во II пассажах— $6,2 \pm 1,2$ ,  $p < 0,05$  и  $6,6 \pm 1,3$ ,  $p < 0,01$  соответственно), в III пассаже эта величина равняется  $30,3 \pm 5,5$ ,  $p < 0,01$ . Следует также добавить, что в отличие от первых двух пассажей, при которых все мыши доживали до дня забоя и давали выраженный асцит, в III пассаже из 10 мышей нами были забиты только 3, имеющие выраженные асциты на 9-й день после прививки опухоли. Из остальных 7 мышей 3 пали на 6—9-й день совершенно без асцита, а 4 на 8—9-й день с небольшим асцитом (результаты дифференциального подсчета элементов опухоли их включены в таблицу). Заслуживает внимания, что именно в этих небольших асцитных опухолях мы обнаружили повышение индекса деструкции в 15 и более раз.

В IV пассаже, результаты которого не включены в таблицу, все животные пали без асцита на 3—9-й день после прививки. Только у двух мышей, павших на 8—9-й день, мы обнаружили небольшие асциты. Посевы на питательные среды показали, что они были бактериологически стерильны. Микроскопическое изучение этих опухолей показало, что они были представлены резко измененными опухолевыми клетками, которые составляют небольшой процент среди воспалительных элементов в асцитической жидкости. Ввиду этого опыт с серийным облучением *in vitro* был вынужденно прекращен.

Какаясь других сдвигов в популяциях клеток опухоли Эрлиха при повторных облучениях *in vitro* дозой в 150 р, прежде всего следует обратить внимание на изменение митотического индекса. В первых двух пассажах он держится в пределах нормы, в третьем же резко падает, и средняя арифметическая величина составляет всего 0,3 по сравнению с  $1,9 \pm 0,7$  в норме. В III пассаже несколько повышен также процент неопухолевых (воспалительных) элементов в асцитных опухолях.

Во 2-й серии опытов были использованы 3 исходные опухоли Эрлиха от 3 мышей. В мазках, приготовленных сразу после облучения *in vivo* опухолей и окрашенных метилпрюн-пиронином, в отношении морфологической картины клеток и интересующих нас характеристик также никаких изменений не было обнаружено. Опухолевые клетки имели ту же форму, величину и интенсивность окраски, что и до облучения, кроме некоторого увеличения ядер, по-видимому, в результате их набухания.

Все привитые облученной опухолью животные по группам забивались в одни и те же сроки. Под влиянием облучения *in vivo* при последующей прививке облученной опухоли интактным животным в популяциях асцитных клеток нами были также обнаружены определенные сдвиги в типах деструкции опухолевых клеток. В табл. 2 приведены результаты дифференциального подсчета элементов в полученных асцитных опухолях по всем 3 группам животных при дозе 150 р ( $M \pm m$ , р).

Таблица 2

Пассаж	Количество живогных	Митозы (без профазы)	I—II типы деструкции	III тип деструкции	% неопухолевых элементов
0	10	$1,9 \pm 0,7$	$11,5 \pm 1,3$	$2,3 \pm 0,5$	$8,7 \pm 0,6$
I	43	$1,5 \pm 0,22$ $p > 0,5$	$20,5 \pm 12,5$ $p > 0,5$	$1,3 \pm 0,16$ $p > 0,1$	$7,8 \pm 0,5$ $p > 0,5$
II	50	$1,0 \pm 0,17$ $p > 0,5$	$13,5 \pm 2,65$ $p > 0,5$	$2,7 \pm 0,29$ $p > 0,5$	$10,2 \pm 1,6$ $p > 0,5$
III	48	$0,9 \pm 0,18$ $p > 0,5$	$11,2 \pm 1,7$ $p > 0,5$	$3,8 \pm 0,35$ $p < 0,05$	$8,77 \pm 0,7$ $p > 0,5$
IV	44	$1,7 \pm 0,44$ $p > 0,5$	$4,6 \pm 0,8$ $p < 0,01$	$3,3 \pm 0,38$ $p > 0,2$	$10,4 \pm 0,77$ $p < 0,05$
V	43	$2,0 \pm 0,33$ $p > 0,5$	$5,6 \pm 1,2$ $p < 0,02$	$3,0 \pm 0,59$ $p > 0,5$	$10,5 \pm 1,7$ $p > 0,5$

Из таблицы видно, что количество клеток, измененных по «взрывному» типу деструкции, по мере увеличения числа пассажей возрастает, хотя и несравнимо меньше, чем при облучении *in vitro*. Средняя арифметическая величина при этом составляла в III пассаже  $3,8 \pm 0,35$ ,  $p < 0,05$ . Хотя по среднеарифметическим данным эти изменения в основном находятся в пределах нормы, однако в некоторых случаях, особенно после III пассажа, число таких опухолевых клеток иногда доходило до 15—20 и больше на 1000 клеток. При дальнейшем облучении и пассировании асцитных опухолей количество их постоянно уменьшалось.

Количество клеток, измененных по разрушительному и разрушительно-литическому типам деструкции, после первого пассажа во 2-й серии опытов было значительно увеличено, но затем, как и в 1-й серии, постепенно уменьшалось. Указанные изменения клеток в мазках представлены главным образом голыми ядрами светло-голубого цвета, в большинстве которых обнаруживаются одно или два пиронинофильных ядрышка, и клетками с цитоплазматическими выростами в виде лопастей или шаров, связанных с основной цитоплазмой тонкой перетяжкой. Эти выросты часто слабо окрашены и не содержат пиронинофильных гранул.

Следует отметить, что если после первых двух пассажей во всех 3 группах у животных асцит развивался в нормальные сроки (к 7—8-ым суткам), то после III и IV пассажей у некоторых животных отмечалось очень малое количество асцитической жидкости в брюшной полости (0,5—2 мл). Однако после V пассажа опять-таки к 8—10-му дню почти у всех животных наблюдался нормально выраженный асцит.

В табл. 3 приведены среднеарифметические данные об изменениях количества нежизнеспособных клеток, всей асцитической жидкости в брюшной полости и опухолевых клеток в 1 мл.

Таблица 3

Пассаж	Количество животных	% нежизнеспособных клеток	Количество асцитической жидкости в мл	Количество опухолевых клеток в 1 мл (в миллионах)
0	10	0,8±0,2	8,3±0,38	16,6±1,5
I	43	0,9±0,19 p>0,5	7,8±0,25 p>0,5	15,8±0,8 p>0,5
II	50	1,85±0,2 p<0,01	7,7±0,3 p>0,5	15,3±0,9 p>0,5
III	48	3,0±0,3 p<0,01	6,1±0,4 p<0,01	13,6±0,9 p>0,1
IV	44	4,0±1,1 p<0,05	4,35±0,35 p<0,01	11,2±0,94 p<0,05
V	43	4,0±0,67 p<0,01	6,4±0,4 p<0,02	8,0±0,47 p<0,01

Как видно из таблицы, по мере увеличения числа пассажей количество нежизнеспособных клеток постепенно увеличивалось, асцитической же жидкости, наоборот, постепенно уменьшалось до IV пассажа, а после V снова начинало увеличиваться. Количество опухолевых клеток обнаруживало явную тенденцию к уменьшению и в V пассаже составляло половину соответствующего показателя после I пассажа.

Резюмируя результаты проведенных опытов, следует отметить, что в отличие от больших доз рентгенооблучения, которые вызывают морфологически легко уловимые повреждения опухолевых клеток, влияние малых доз рентгенооблучения на опухолевые клетки удается выявить по более тонким сдвигам в некоторых показателях прогрессии опухоли в организме. В условиях серийного рентгенооблучения дозой в 150 р в асцитной опухоли Эрлиха ясно выступает закономерное изменение в картине деструкции клеток, которая постоянно сопровождает рост опухоли в интактном организме. Указанная доза облучения в

наших опытах оказывала действие на деструкцию опухолевых клеток по «взрывному» типу. Этот эффект более наглядным был при рентгенооблучении опухоли *in vitro*, чем *in vivo*. Мы склонны объяснить это тем, что опухолевые клетки в облучаемом малыми дозами организме, по-видимому, имеют возможность за короткий промежуток времени более или менее полно ликвидировать последствия облучения.

Понятие о стимулировании, применяемое нами в отношении процесса деструкции опухолевых клеток по «взрывному» типу, мы находим приемлемым потому, что указанный механизм гибели клеток отличается от известных до сих пор механизмов и, по-видимому, указывает на какие-то специфические процессы, происходящие в опухолевых клетках. Здесь уместно отметить, что структуры «взрывного» типа в асцитной опухоли Эрлиха до нас наблюдали и другие исследователи [1, 2, 14]. В. А. Арефолов [1, 2] на основании автордиографических исследований пришел к выводу, что в этих структурах, несмотря на дислокацию (по обозначению автора) хроматина, продолжается синтез ДНК и РНК. Обратив особое внимание на эти структуры, мы уже провели в этом направлении ряд экспериментально-морфологических исследований [3—8]. В дальнейшем мы намерены изучить их на субмикроскопическом уровне.

Морфологическая лаборатория Армянского  
института рентгенологии и онкологии

Поступило 21/V 1971 г

Բ. Կ. ԵԶԴԱՆՅԱՆ, Կ. Ռ. ՄԱՆՎԵԼՅԱՆ

ԷՐԼԻԽԻ ԱՍՑԻՏԱՅԻՆ ՈՒՌՈՒՑՔՈՒՄ ԴԵՍՏՐՈՒԿՏԻՎ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ՎՐԱ ՌԵՆՏԳԵՆՆԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել ունեւորեցան ճառագայթների փոքր դոզաների (150 ունեւորեցան) ազդեցութիւնը այն դաստրոկտիվ պրոցեսների վրա, որոնցով ուղեկցւում է ուռուցքային աճը օրգանիզմում: Հատուկ ուշադրութիւն է դարձւած էլուիսի սացիտային ուռուցքում նկարագրւած բջիջների «պայթիւնային» տիպի դաստրոկցիայի վրա: Վիճակագրական եղանակով մշակելով փորձերի արդունքները, հեղինակները եկել են այն եզրակացութեան, որ դաստրոկցիայի նշված տիպը որոշակիորեն խթանւում է ունեւորեցան ճառագայթների փոքր դոզաներով, և այդ խթանումն ավելի արտահայտւած է ուռուցքների *in vitro* ճառագայթահարման դեպքում:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арефолов В. А. Вестник АМН СССР, 1965, 11, стр. 80.
2. Арефолов В. А., Бржеский В. В. Вестник АМН СССР, 1966, 11, стр. 34.
3. Езданян Б. А. Материалы XI научной конференции, посвященной 20-летию Ин-та рентгенологии и онкологии. Ереван, 1967, стр. 129.

4. *Езданян Б. А.* Журнал экспериментальной и клинической медицины АН Арм. ССР, 1968, т. VIII, 6, стр. 85.
5. *Езданян Б. А.* Журнал экспериментальной и клинической медицины АН Арм. ССР, 1969, т. IX, 1, стр. 25.
6. *Езданян Б. А., Манвелян К. Р.* Материалы VI межреспубликанской конференции рентгенологов, радиологов, онкологов. Ереван, 1968, стр. 179.
7. *Езданян Б. А., Манвелян К. Р.* Вопросы рентгенологии и онкологии, 1969, т. X, стр. 391.
8. *Езданян Б. А., Манвелян К. Р.* Материалы XIII научной конференции Армянского ин-та рентгенологии и онкологии. Ереван, 1970, стр. 101.
9. *Кузин А. М., Хакимов Т. А.* Радиобиология, 1967, т. 7, 3, стр. 328.
10. *Becker H. D., Strassner W. und Fischer H.* Радиобиология, радиотерапия, т. 6, 4. ГДР, 1965.
11. *Forssberg A.* В кн.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. М., 1958, стр. 261.
12. *Forssberg A. and Klein G.* Exptl. Cell Research, 1954, 6, 2, 480.
13. *Klein G. and Forssberg A.* Exptl. Cell Research, 1954, 6, 1, 211.
14. *Reiche K.* Strahlentherapie, 1955, Bd. 97, Heft 4, 549.
15. *Revesz L. J.* Nat. Cancer Inst., 1955, 15, 6, 1691.
16. *Takahashi T., Nakahara K., Yoshida T. H.* Цит. по РЖБ. Общие вопросы патологии. Онкология, 1965, 4, стр. 22.