

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОБЛУЧЕННЫХ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

Корогодин В.И., Малютина Т.С.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Ликвидация вредных последствий биологического действия ионизирующих излучений — важнейшая проблема современной радиобиологии. Выздоровление облученного многоклеточного организма может происходить как вследствие замещения клеток, погибших в результате облучения, неповрежденными элементами его органов и тканей, так и вследствие восстановления самих поврежденных клеток. Поэтому успехи в разработке методов борьбы с лучевыми поражениями зависят от степени нашей осведомленности о роли обоих этих процессов в патогенезе лучевой болезни и от умения воздействовать на каждый из них.

Роль размножения неповрежденных клеток в выздоровлении облученных животных хорошо известна. Явление это уже используется при лечении экспериментального лучевого поражения путем инъекции гомогенатов селезенки или костного мозга. Возможность же восстановления жизнеспособности клеток, поврежденных ионизирующими излучениями, до последнего времени подвергалась сомнению¹. Однако некоторые указания на такую возможность появились в радиобиологической литературе еще около сорока лет тому назад. В частности, Г.А. Надсон в своем классическом труде, посвященном радиобиологии дрожжевых организмов, отмечает, что клетки, подвергшиеся воздействию препаратов радия, способны «выздоровливать» при переносе их на свежую питательную среду². Это наблюдение имеет принципиальное значение: если судьба облученных клеток действительно зависит не только от полученной дозы, но и от условий их существования после облучения, то изучение этого феномена может дать в руки радиобиологов мощное оружие борьбы с лучевым поражением путем воздействия на первичные процессы, разыгрывающиеся именно в клетках облученного организма. К сожалению, исследования Г. А. Надсона, носившие в основном качественный характер, не показали убедительно, было ли описанное им пострадиационное восстановление клеток правилом или только исключением.

Десять лет тому назад Шерман и Чейз описали возрастание выживаемости дрожжевых клеток, облученных рентгеновыми лучами, при высеве их на питательную среду через определенное время после воздействия. Однако эти авторы объяснили наблюдавшийся ими факт не восстановлением поврежденных излучениями клеток, а размножением сохранившейся жизнеспособности части популяции за счет продуктов распада клеток, необратимо поврежденных радиацией³.

Для того, чтобы окончательно решить вопрос о способности клеток к пострадиационному восстановлению, требовалось экспериментально проверить справедливость гипотезы Шермана и Чейза. Не обнаружив соответствующих данных в литературе, один из авторов настоящего сообщения провел серию опытов по пострадиационному восстановлению на диплоидных дрожжевых организмах. В этих опытах удалось воспроизвести описанный Шерманом и Чейзом феномен возрастания выживаемости облученных дрожжей при сохранении их в течение суток и более в непитательной среде, а также показать отсутствие в таких условиях существенного

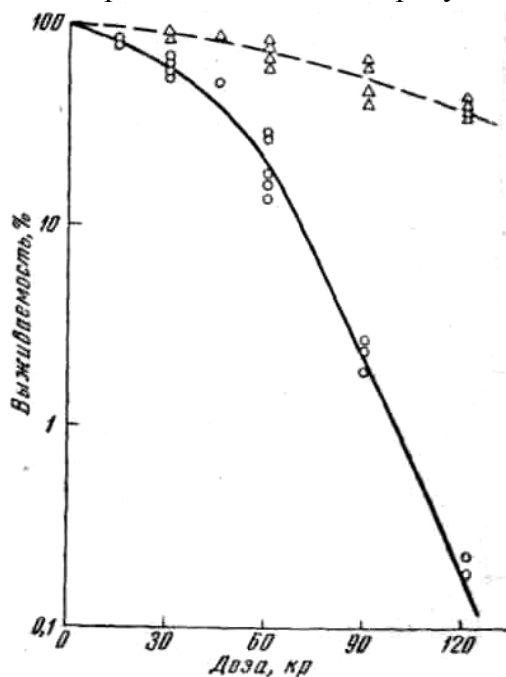
¹ См. Report of the United Nations Scientific conference on the effects of atomic radiation, New York, 1958.

² См. Г.А. Надсон «Вестник рентгенол. и радиол.», т.1, 1920, № 1—2, стр. 46.

³ См. F.G. Sherman, H. B. Chase, «J. Cell. Contr. Physiol.», v. 33, 1949, P. 17.

лизиса и размножения облученных клеток⁴. Однако эти аргументы в пользу реальности эффекта восстановления относятся к области косвенных доказательств и поэтому не могут считаться достаточно убедительными.

Недавно нами было установлено, что резкое повышение выживаемости диплоидных дрожжевых клеток в период пострадиационного митотического покоя происходит даже после облучения их дозами в 120—150 кр, вызывающего инактивацию до 99,90—99,99% особей. Гибель клеток после облучения такими дозами наступает, в основном, после одного почкования, и на препаратах лишь изредка встречаются микроколонии, состоящие из 4—5 клеток. Однако 24—48-часовое пребывание облученных столь высокими дозами дрожжей в непитательной среде повышает их выживаемость в 200—1000 раз, причем инактивация не восстановившейся части популяции в этом случае наступает после нескольких циклов размножения. Кривая выживания (сплошная линия) и кривая восстановления (пунктирная) изучавшихся нами диплоидных дрожжей показаны на рисунке.



Кривые выживания дрожжевых клеток после облучения γ -лучами: сплошная линия — высев на питательную среду непосредственно после облучения; пунктирная — высев на питательную среду через 24—48 часов после облучения (кривая восстановления)

Эффект восстановления дрожжевых клеток, облученных дозами, вызывающими столь высокую летальность, позволил проверить реальность этого феномена прямым экспериментом. Объектом исследования, как и в предыдущих опытах, служили диплоидные дрожжи *Saccharomyces vini*, штамм Мегри-139-В. Дрожжевую суспензию, содержащую, около 500 тыс. клеток на 1 мл, облучали γ -лучами радиоактивного кобальта в дозе 123 кр, вызывающей инактивацию 99,8 % клеток. Непосредственно после облучения суспензию разбавляли стерильной водопроводной водой в 10 и 10 000 раз. Из первого разведения, содержащего около 50 тыс. клеток на 1 мл, производили высев на чашки Петри для определения выживания сразу после облучения; другое разведение, содержащее всего около 50 клеток на 1 мл, разливали по 1 мл в 30—40 стерильных пробирок. Половину таких порций высевали на питательную среду тотчас после их приготовления, для определения частоты попадания в эти порции клеток, способных к бесконечному размножению сразу после облучения. Вторую половину

⁴ См. В.И. Корогодина, «Биофизика» 1958, т. 3, № 6, стр. 703; В. И. Корогодина, О.В. Малиновский, Н.А. Порядкова, Н.А. Изможеров, «Цитология», т. 1, № 3, 1959, стр. 288.

порций высевали на питательную среду через 48 часов после облучения, для определения величины эффекта восстановления; последняя определялась также в неразделенной на порции суспензии, сохранявшейся в идентичных условиях (в термостате при 30°). Выживаемость определялась путем подсчета макроколоний на чашках Петри после четырехсуточной инкубации при 30°. Контролем служили необлученные дрожжи. Данные приведены в таблице.

Полученные результаты показывают следующее. После облучения дрожжевой суспензии, содержащей около 500 тыс. клеток на 1 мл, дозой в 123 кр выживание близко к 0,2%. При разведении облученной суспензии в 10 000 раз и разделении ее на порции по 1 мл, в каждую такую порцию попадало около 50 клеток. Так как 99,8% этих клеток сразу же после облучения не способно было образовывать макроколонии, то лишь в 1 — 2 порциях из 10 оказывалось по одной клетке, не утратившей вследствие облучения способности к размножению. Если бы эффект восстановления был артефактом, т.е. явлением, искусственно вызванным обработкой, а возрастание выживаемости при инкубации облученных дрожжей в непитательной среде происходило, как это предполагали Шерман и Чейз, за счет размножения неинактивированных особей, то мы зарегистрировали бы присутствие этого эффекта лишь в 3—7 порциях из изученных 32. В действительности же резкое повышение выживаемости (в 200 раз) было зарегистрировано во всех 32 порциях облученной суспензии, из которых минимум 25 не содержали ни одной клетки, способной к бесконечному размножению сразу после облучения. При этом величина восстановления в изолированных пробах оказалась такой же, как и в облученной суспензии, не разделенной на порции (ср. таблицу и рисунок).

Доказательство реальности эффекта пострадиационного восстановления диплоидных дрожжевых клеток (доза 123 кр)

Группы		Опыт от 18.11—1959 г.		Опыт от 4.11—1959 г.	
		Число колоний	%%	Число колоний	%%
Контроль, (развед. 1 : 10000)		60,7 ± 1,3	100	44,6 ± 1,0	100
Сроки высева	Сразу после облучения (развед. 1 : 10)	141,0 ± 20,6	0,23	81,0 ± 8,7	0,18
	Сразу после облучения, порции в 1 мл (развед. 1 : 10)	В трех чашках из 15 выросло по одной колонии (2 : 10)	0,33	В двух чашках из 20 выросло по одной колонии (1 : 10)	0,10
	Через 48 час. после облучения, порции по 1 мл, (развед. 1 : 10000)	Во всех 13 чашках выросли колония 25,8 ± 7,1	42,5	Во всех 19 чашках выросли колонии 16,6 ± 3,5	37,2

Таким образом, пострадиационное восстановление диплоидных дрожжевых клеток, облученных высокими дозами γ -лучей, происходило с одинаковой интенсивностью во всех изученных нами пробах, независимо от того, содержали эти пробы клетки, не инактивированные вследствие облучения, или нет. Этот факт убедительно показывает, что возрастание выживаемости облученных диплоидных дрожжей при пострадиационной инкубации их в непитательной среде есть истинный эффект восстановления и не связано с размножением отдельных сохранивших жизнеспособность клеток.

За последние годы в радиобиологической литературе накопилось значительное количество данных, показывающих, что пострадиационное восстановление не есть

привилегия диплоидных дрожжей, а свойственно многим различным одноклеточным и клеткам многоклеточных организмов⁵. Это позволило В.И. Корогодину и Н.В. Лучнику предложить рабочую гипотезу, согласно которой первичные радиобиологические изменения в клетках могут носить потенциальный характер и обратимую форму, а степень их реализации зависит от условий существования клеток после облучения. Можно полагать, что изучение природы этих потенциальных повреждений и разработка приемов, направленных на ускорение их восстановления, сыграют существенную роль в борьбе с вредными биологическими последствиями действия ионизирующих излучений.

⁵ *A. W. Prail, W.S. Moos, M.Eden, J Nat. Cancer. Inst., v. 15, 1955, № 4, p. 1039. См. Э.Я. Граевский, Е.Г. Зиновьева, «Доклады АН СССР», т. 121, 1958, № 5, стр. 837; Н.В. Лучник, Л.С. Царапкин, там же, т. 124, 1959, № 1. стр. 213.*