

Б. Л. АСТАУРОВ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ОТСУТСТВИЯ
ПРЯМОГО ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ X-ЛУЧЕЙ НА
ЦИТОПЛАЗМУ ЖИВОЙ КЛЕТКИ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 23 V 1947)

Несмотря на множество исследований по биологическому действию ионизирующих излучений, сведения о локализации первичного эффекта радиации в основных структурных компонентах клетки и о доле участия „цитоплазматических“ и „ядерных“ первичных изменений в конечном суммарном биологическом эффекте далеки от полноты. Рентгеногенетика представила обильные и точные сведения о возникновении стойких изменений в ядре (генных мутаций, разрывов хромосом и других аберраций). Точных же сведений о характере и значении первичных изменений цитоплазмы нет, хотя обычно считается само собой разумеющимся, что цитоплазма испытывает изменения, вызывающие те или иные биологические последствия. Ряд экспериментальных данных говорит, однако, в пользу того, что биологический эффект рентгенизации в основном, если не нацело, обязан первичным изменениям в клеточном ядре (1-8). Эти данные не дают, однако, решающих доказательств отсутствия цитоплазматического эффекта. Опытам, говорящим в пользу равного участия облученных женских и мужских гамет в передаче зародышу вредного эффекта радиации (1-3), противостоят теперь точные данные, показывающие, что облучение богатых цитоплазмой яиц несравненно опасней для зародыша, чем облучение спермий (9-11). Подобные данные, как я уже отметил (9), не доказывают наличия плазматического эффекта, так как различное участие яиц и спермиев в передаче эффекта радиации потомству легко может быть объяснено различиями в фазах развития и в состоянии их ядерного аппарата в момент облучения. Многими авторитетными исследователями, например Меллером (12), факты подобного рода считаются, однако, сильнейшим аргументом в пользу прямого повреждения цитоплазмы. В опытах с экранированием ядра свинцом (4) и в опытах с влиянием не достигающих ядра α -частиц, излучаемых полонием (5,6), источником неточностей и неопределенности выводов является невозможность оградить ядро клетки от вторичного излучения, а также то обстоятельство, что значительная часть цитоплазмы (околоядерная) избегает облучения вместе с ядром. Последнее является также одним из дефектов, присущих опытам с применением мерогонии (7).

Полный экспериментальный андрогенез того типа, который мы получили у тутового шелкопряда (13,14), дает в руки строгий метод для безупречно точного решения вопроса. У тутового шелкопряда тепловым воздействием на свежее оплодотворенное яйцо легко устранить женское ядро из процессов оплодотворения и развития и вызвать образование функционального ядра дробления за счет слияния двух

семенных ядер (при физиологической полиспермии). Последующее развитие идет андрогенетически, т. е. с цитоплазматическим материалом, полученным от матери вместе с яйцом, и с ядерным материалом, полученным с отцовской стороны вместе со спермиями. Такое развитие идет до конца, заканчиваясь получением бабочек, всегда самцов. Посредством генетической маркировки (оплодотворяя яйца самцами, гомозиготными по рецессивному гену, отсутствующему у самки) можно безошибочно отличать андрогенетических особей (с рецессивным фенотипом) от их сестер и братьев обычного происхождения (гетерозиготных и, значит, нормальных по фенотипу). Поэтому, если перед получением андрогенеза произвести рентгенизацию яиц, то легко отличать особей, получивших только рентгенизованную цитоплазму (андрогенетических), от зиготических особей, получивших от матери, кроме облученной цитоплазмы, гаплоидный набор рентгенизованных хромосом. Наши прежние опыты (14) были поставлены по этой схеме и дали разительные свидетельства безвредности весьма сильной рентгенизации. Они показали, что даже огромные (около 25 000 г) дозы X-лучей средней жесткости (0,3—0,6 Å), превосходящие по крайней мере в 2,5 раза те дозы, которые вызывают гибель всех эмбрионов зиготической структуры, не исключают возможности развития особей андрогенетических. Мы указали тогда же на возможность исследовать этим путем действие X-лучей на цитоплазму. Недавно (15) Анна Уайтинг получила 18 случаев полного гаплоидного андрогенеза у перепончатокрылого *Habrobracon juglandis*. Она также пользовалась тяжелой рентгенизацией яиц (до 43000 г), и эта громадная доза X-лучей не воспрепятствовала некоторым яйцам развиться с необлученным ядерным материалом до стадии имаго. При строгом подходе факты развития некоторого числа андрогенных особей из сильно рентгенизованных яиц, как это имело место в моих старых опытах (14) и в недавних опытах Анны Уайтинг (15), все же не позволяют заключить о полной безвредности облучения цитоплазмы, так как остается возможность, что другие подобные же андрогенные особи погибают от рентгенизации овоплазмы, и что жизнеспособность единичных выживших экземпляров также понижена.

Поэтому все имеющиеся до сих пор данные о действии ионизирующих радиаций на основные части клетки позволяют сделать лишь осторожный и половинчатый вывод: цитоплазматический эффект ионизирующих радиаций с достоверностью не установлен и либо отсутствует вовсе, либо во много раз слабее, чем эффект ядерный. Чтобы решить эту альтернативу, надо установить на статистически достаточном материале, падает ли жизнеспособность андрогенетических особей по мере увеличения дозы X-лучей или она несколько не убывает, удерживаясь при любых дозах на одном уровне с нерентгенизованным контролем.

Соответствующие опыты выполнены в 1946 г. Три равноценные группы самок *Bombyx mori* рентгенизовались в течение 50, 100 и 150 минут; 4-я группа не подвергалась рентгенизации и служила контролем. Облучение осуществлялось мощным аппаратом типа „Пантиск“ при условиях 355 kV, 4 mA, без фильтра, дистанция 27,5 см. С качественной стороны использованные лучи относятся к сверхжестким (длина волны менее 0,05 Å). По определению дозиметрической лаборатории Московского рентгенологического института доза составляла 3600 ± 120 г в минуту. По этим данным материал получил при максимальной экспозиции огромную дозу X-лучей порядка $540\,000 \pm 18\,000$ г. Даже допустив, что благодаря трудностям дозиметрии сверхжестких X-лучей доза может быть преувеличена, можно утверждать, что она все же очень велика и заведомо перекрывает диапазон дозирровок, применяемых в подавляющем большинстве

рентгенобиологических исследований и, тем более, в рентгенотерапии. Через два часа после экспозиции подопытные бабочки (50 самок в каждой серии) были спарены с самцами, гомозиготными по рецессиву b (brown), вызывающему рыжую окраску личинок вместо нормальной черной.

Грена, отложенная бабочками в каждой из подопытных и в контрольной группе, делилась в дальнейшем на две части: 1) одна часть не проходила теплового воздействия и развивалась обычным зиготическим путем, 2) другая часть грены в возрасте от 1 до 2 час. (считая с момента откладки и следовательно осеменения) подверглась действию горячего воздуха при температуре 40°С в течение 2 час. 15 мин. В прошедших тепловое воздействие сериях часть яиц сохраняла нормальный зиготический способ развития, приводивший к вылуплению гетерозиготных черных личинок (Bb), а другая часть развивалась андрогенетически в рыжих (bb) личинок. На всех этапах эксперимента все решительно условия, кроме одного произвольно менявшегося (доза X-лучей), для всех четырех серий были строго тождественными. Решающими для нашей цели являются данные, полученные на материале, прошедшем тепловое воздействие. Они приведены в табл. 1. Здесь каждая из 3 подопытных серий и контроль включали от 16 000 до 22 000 яиц. Во всех четырех группах вылупилось 1664 андрогенных гусеницы. Оказалось, как и следовало ожидать, что жизнеспособность зиготических зародышей быстро падает по мере возрастания дозы X-лучей. Напротив, процент выхода андрогенных личинок в рентгенизованном материале оказалась даже несколько выше, чем в контроле. Последнее объясняется тем, что рентгенизация, нарушая деление, созревание яйца и нормальный ход оплодотворения, содействует андрогенному развитию. В рентгенизованных сериях тройное возрастание дозы не сопровождается ни малейшим уловимым снижением процента андрогенных личинок. Разница в проценте жизнеспособности андрогенных особей между сериями, наиболее отличающимися по дозе X-лучей, т. е. между серией 50 мин. (2,215%) и серией 150 мин. (2,302%), составляет всего $0,089 \pm 0,144\%$, т. е. почти вдвое меньше своей средней ошибки и, следовательно, явно не реальна.

Таблица 1

Действие возрастающих доз X-лучей на жизнеспособность зародышей при нормальном (рентгенизованы цитоплазма и ядро) и андрогенном (рентгенизована только цитоплазма) развитии

Длительность облучения в мин.	Тепловое воздействие для получения андрогенеза					
	Число яиц	Число и фенотип вышедших личинок		% андрогенеза среди личинок	% зиготических и андрогенных личинок к исходному числу яиц	
		черные (зиготические)	рыжие (андрогенные)		% зиготических (черных)	% андрогенных (рыжих)
0 (контроль)	15 965	2 912	178	5,8	18,2	$1,115 \pm 0,083$
50	21 424	1 998	479	19,2	9,3	$2,213 \pm 0,101$
100	20 270	1 218	517	29,8	6,0	$2,551 \pm 0,111$
150	21 500	76	495	86,7	0,3	$2,302 \pm 0,102$

Так как процент выхода андрогенных личинок является мерилем жизнеспособности зародышей, развивающихся с рентгенизованной цитоплазмой, но с необлученным отцовским ядерным материалом, то приведенные данные показывают, что рентгенизация всего цитоплазма-

тического материала яиц *Bombyx mori* в испытанных весьма значительных дозах не оказывает ни малейшего вредного действия на ход развития.

Едва ли можно себе представить более чувствительный к рентгенизации объект, чем развивающаяся яйцеклетка, и более чуткий „детектор“ повреждающего действия X-лучей, чем процесс эмбриогенеза. Поэтому мы в праве думать, что рентгенизация цитоплазмы не сопровождается вообще никаким заметным биологическим эффектом. Есть полные основания считать, что этот вывод относится не только к данному частному случаю, но должен иметь характер универсальный и принципиальный. Насколько можно судить, он не противоречит никаким точным данным рентгенобиологических исследований и позволяет сформулировать следующее общее положение: биологический эффект ионизирующих излучений связан с первичными изменениями в материале клеточных ядер; первичные изменения цитоплазмы не оказывают существенного биологического действия.

Другими словами, мы приходим к заключению, что любой биологический эффект рентгеновых лучей и других ионизирующих радиаций будь то „ожог“ или рак кожи, нарушение кариокинеза, гибель клетки, подавление регенерации, „радиевая болезнь“ зародыша, избирательная чувствительность раковой опухоли, стерилизация и т. д., имеют своей первопричиной только ядерные, но отнюдь не цитоплазматические изменения. Очевидно, что многие из этих вторичных последствий облучения должны возникать не как непосредственная реакция, но как опосредствованный результат нарушения внутриклеточного метаболизма благодаря необратимым изменениям ядра. При этом, пользуясь словом ядро, мы имеем в виду в основном те неповторимые по своей сложности самопроизводящиеся нуклеопротеидные молекулы, макромолекулы или молекулярные агрегаты, которые, составляя активное вещество хромосом, рисуются нам в виде материального субстрата генов.

Развернутая аргументация в пользу законности этих экстраполяций, обоснование вытекающих отсюда широких следствий и некоторых вероятных ограничений общего правила выходят за рамки этого сообщения.

Институт цитологии, гистологии
и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступил ●
23 V 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. Hertwig, Arch. mikr. Anat., Abt. II, 77, 1—2 (1911). ² G. Hertwig, Strahlentherapie, 11 (1929). ³ P. Hertwig, Handb. Vererb.-Wiss., 3, 1 (1927). ⁴ P. Vintemberger, C. R. Soc. Biol., 102, 36, 1050 (1929). ⁵ R. E. Zirkle, J. Cell. Compar. Physiol., 2, 251 (1932). ⁶ P. S. Henshaw and C. T. Henshaw, Biol. Bull., 64, 348 (1933). ⁷ P. S. Henshaw, Amer. J. Cancer, 33, 258 (1938). ⁸ D. E. Lea, Actions of Radiations on Living Cells, Cambridge, 1946. ⁹ Б. Л. Астауров и С. Л. Фролова, Биол. журн., 4, 5, 861 (1935). ¹⁰ B. P. Sonnenblick, Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 26, 6, 773 (1940). ¹¹ P. S. Henshaw, Am. J. Roentgen. and Radium Therapy, 43, 6, 907 (1940). ¹² H. J. Muller, The Biological Effects of Radiation with Especial Reference to Mutation. Réunion Internat. de Physique, Chimie, Biol., Paris, 1937; Actual. Scientif. Industr., 725, 478 (1938). ¹³ Б. Л. Астауров, Биол. ВАСХНИЛ, № 12 (1936). ¹⁴ Б. Л. Астауров, Биол. журн., 6, 1, 3 (1937). ¹⁵ Anna Whiting, Science, 103, 219 (1946).