

Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej  
w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ

**Wpływ napromieniania ośrodkowego układu nerwowego promieniami X  
na kwasy nukleinowe komórek wątroby**

**Влияние облучения центральной нервной системы лучами X  
на нуклеиновые кислоты клеток печени**

**Influence of Roentgen Irradiation of the Central Nervous System  
on Nucleic Acids of Liver Cells**

Badania kwasów nukleinowych w komórkach różnych narządów zarówno po zadziaaniu promieni jonizujących na cały ustrój, lub wyłącznie na badany narząd były przeprowadzane przez wielu autorów (4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 19, 20, 25, 29). Bacarevic i wsp. (1956) wykazali, że pod wpływem promieni X w komórkach śledzionowych zwierząt doświadczalnych zmniejsza się ilość kwasów nukleinowych, a przede wszystkim kwasu rybonukleinowego (RN). W niektórych jednak przypadkach obserwowali nawet wzrost ilości RN (1). K. Vorbrodt i wsp. (1958) badali zmiany względnej zawartości kwasów nukleinowych w miejscowo napromienianym naskórku szczurów wykazując, że bezpośrednio po napromienianiu dawką 2600 r oraz w 3 godziny później zawartość kwasów nukleinowych, a zwłaszcza kwasu dezoksyrybonukleinowego (DRN) znacznie spada oraz, że to obniżenie jest przejściowe (29). Lowe i wsp. (1958) porównując zmiany kwasu rybonukleinowego i glikogenu w komórkach wątrobowych szczura po napromienianiu zwierzęcia dawką 1500 r, oraz innych grup zwierząt, którym prócz promieni X podawano kortison, stwierdzali, że w pierwszym przypadku ilość RN zwiększa się i maximum osiąga po 24 godzinach. Jednak w przypadku stosowania tylko promieni X, wzrost RN był mniejszy i powrót do wartości kontrolnej obserwowano szybciej, niż w grupie zwierząt, którym stosowano wstrzykiwania kortisonu lub obydwu czynników równocześnie (15). Gershbein i Krotoszyński (1956), podali, że kwasy nukleinowe komórek wątrobowych szczurów w 3—5 dni po ekspozycji w dawce 6500 r nie różniły się wyraźnie od kontroli (11).

W badaniach przeprowadzonych przez wymienionych autorów uzyskiwano różne wyniki zmiany zawartości RN i DRN w komórce. Wyjaśnił to Petrakis (1949) wykazując, że zmiana kwasów nukleinowych zależy od dawki napromieniania, oraz od czasu, który upłynął od napromieniania do zabicia (21). Wykazano

także, że działanie biologiczne promieni jonizujących zależy od ilości pochłoniętej energii przez tkankę i od występujących pod jej wpływem reakcji radiochemicznych, które prowadzą do różnych zmian morfologicznych (2,27). Wiadome jest również, że dla tej samej dawki i dla tego samego obszaru napromieniania zmiany są większe przy całkowitym niż przy miejscowym napromienianiu, a radioczułość tkanki jest odwrotnie proporcjonalna do stopnia jej zróżnicowania. Dużą radioaktywność wykazują wszystkie komórki, których jądra mają dużą objętość w porównaniu z objętością cytoplazmy. Komórki, które są szczególnie w swej egzystencji zależne od jądra, mogą być bardzo czułe na napromienianie (23).

Ord i Stocken (1958) badając zaburzenia występujące bezpośrednio po napromienianiu w komórkach promienioczułych i promienioopornych stwierdzają, że różnice w promienioczułości pomiędzy nie dzielącymi się komórkami np. limfocytu, a komórkami wątroby mogą być przypisywane roli jaką odgrywa cytoplazma, a w szczególności mitochondria w odnowie i uszkodzeniu jądra. Jądro i mitochondria są głównymi sferami wrażliwości w komórce. Ich wrażliwość można by tłumaczyć udziałem tlenu związanego w jakiejś formie w reakcjach jądrowych i mitochondrialnych, będących czynnikiem określającym promienioczułość tych miejsc (17, 18).

Obecnie zagadnienie wpływu promieniowania X na przemianę kwasów nukleinowych w komórce jest szeroko dyskutowane, jednakże problem ten wciąż nie jest dostatecznie rozpracowany, co podkreśla Lajtha i wsp. (1958), oraz Brachet (1959). Celem niniejszej pracy było wykazanie zawartości kwasów nukleinowych w komórkach wątrobowych po jedno- i wielokrotnym napromienianiu wyłącznie ośrodkowego układu nerwowego.

#### MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na 90 szczurach białych obojga płci, wagi 160—180 g. Wszystkie zwierzęta pochodziły z tej samej hodowli i żywione były standardową dietą. Zwierzętom napromieniano jedynie okolicę głowy, pozostałą część ciała osłaniano pokrywą ołowianą grubości 6 mm. Posługiwano się aparatem typu Siemens Roentgen Bombe (Niemcy), przy napięciu 190 KV, filtry 0,5 mm Cu + 1 mm Al, odległość obiektu od ogniska wynosiła 40 cm. Czas naświetlania dla 600 r — 22 min., dla 1200 r — 45 min.

Zwierzęta doświadczalne podzielono na cztery grupy. Pierwszą grupę doświadczalną stanowiły zwierzęta (1—25), którym napromieniano głowę jednorazową dawką 600 r. Drugą grupę — te (26—50), które otrzymały dwukrotnie dawkę 600 r w odstępie 24 godzinnym. Do trzeciej grupy należały zwierzęta (51—75), które napromieniano jednorazową dawką 1200 r. Grupę czwartą (76—90), stanowiły zwierzęta kontrolne. Każdą z trzech pierwszych grup zwierząt podzielono na 5 podgrup. W podgrupie pierwszej zabijano zwierzęta bezpośrednio po napromienianiu, w drugiej 2 godz., w trzeciej 24 godz., w czwartej 7 dni i w piątej 21 dni. Taki sam podział stosowany był w trzech pozostałych grupach (tab. 1 i 2). Po dekapitacji zwierząt pobierano wątrobę, która po oddzieleniu małego wycinka do badań histochemicznych, stanowiła materiał analizy chemicznej.

Do badań histochemicznych pobrane wycinki wątroby utrwalano, jedne w płynie Carnoya, drugie w kwaśnym Zenkerze lub Serra i po odwodnieniu zamykano w parafinie. Skrawki grubości  $5\mu$  naklejało na szkiełka podstawowe. Preparaty podzielono na trzy serie: A, B, C.

Na preparatach serii A naklejano skrawki wątroby zwierząt, które były napromieniane dawką 600 r. W serii B skrawki wątroby zwierząt, które były napromieniane dwukrotnie dawką 600 r, a w serii C po jednorazowej dawce 1200 r. Kolejność naklejanых skrawków była następująca: 1) skrawki wątroby zwierzęcia zabitego bezpośrednio po napromienianiu 2) dwie godz., 3) 24 godz., 4) 7 dni, 5) 21 dni. W ten sposób przygotowane preparaty barwiono po utrwaleniu w płynie Carnoya metodą Feulgena na DRN, natomiast utrwalone w kwaśnym Zenkerze i Serra, barwiono zielenią metylową i pyroniną (Unna) według metody Bracheta. Preparaty kontrolne poddawano działaniu krystalicznej rybonukleazy firmy Mann Research Laboratories N. Y. 6. (inkubacja w stężeniu enzymu 1 mg/ml wody w 37°C w czasie 1 godz. według metody Bracheta). Intensywność uzyskanego odczynu histochemicznego określano przy pomocy mikrofotometru Zeissa, typ II, wyznaczając z kilku skrawków wątroby jednego zwierzęcia średnią wartość ekstynkcji ze stosunku ilości światła przepuszczonego przez zabarwiony preparat do ilości światła przepuszczonego w ślepej próbie. Dokonano 100 pomiarów przepuszczalności światła z jednego skrawka.

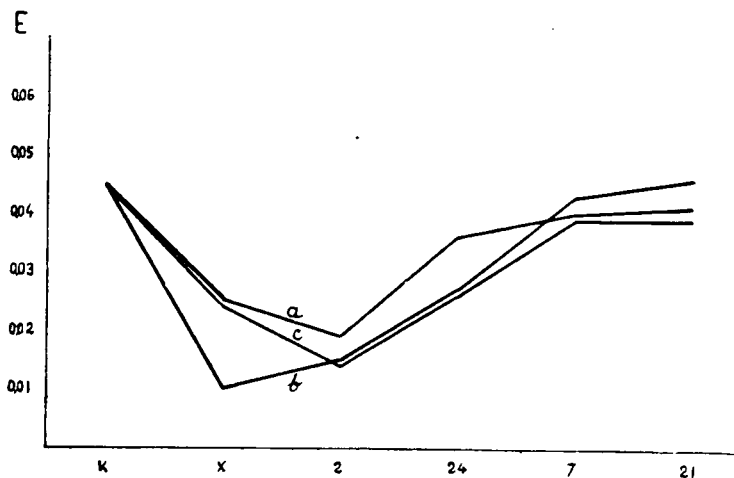
Wątrobę przeznaczoną do analizy chemicznej wazono, a następnie homogenizowano w szklannym homogenizatorze typu Porker-Elvehjem. Jako środka homogenizującego użyto kwasu cytrynowego M/3. Z części homogenizatu oddzielano jądra według metody R. Vendrely i C. Vendrely (28). Czystość izolowanych jąder sprawdzano pod mikroskopem na rozmazach zabarwionych fioletem metylenowym.

Celem oddzielenia kwasów nukleinowych z homogenizatu wątrobowego stosowano metodę Schneidera (24). Oznaczenia kwasów dezoksyrybonukleinowego i rybonukleinowego przeprowadzono metodami kolorymetrycznymi. DRN oznaczano reakcją Dischego, RN reakcją orcynową. Pomiarów ekstynkcji dokonano na fotometrze Pulfricha. Stężenia DRN i RN zostały odniesione do masy wątroby, oznaczając od kilku do kilkunastu wariantów z każdej próby i z nich obliczano średnią wartość ekstynkcji. Na podstawie uzyskanych wyników dokonano oceny statystycznej obydwu metod: histofotometrycznej i fotometrycznej posługując się testem Studenta.

#### BADANIA WŁASNE

Oznaczenia przy pomocy mikrofotometru względnych ilości kwasu dezoksyrybonukleinowego w preparatach histologicznych barwionych metodą Feulgena wskazują, że ilości jego w jądrach komórek wątrobowych pod wpływem promieni X działających wyłącznie na ośrodkowy układ nerwowy ulegają zmianie. (Wyniki przedstawia tab. 1 i 2). Ilość DRN maleje bezpośrednio po napromienianiu, osiąga minimum po 2 godzinach, gdy po 24 godz. obserwuje się wzrost odczynu na DRN, a po

7 dniach dochodzi do wartości kontrolnej (ryc. 1, krzywa abc). Największy spadek poziomu DRN obserwowano u zwierząt po dwukrotnej dawce 600 r w odstępie 24 godz., zabitych bezpośrednio po napromienianiu (ryc. 1, krzywa b). Mniejszy spadek był obserwowany u zwierząt zabitych w tym samym czasie, ale napromienianych jednorazową dawką 600 r i 1200 r (ryc. 1, krzywa ac).

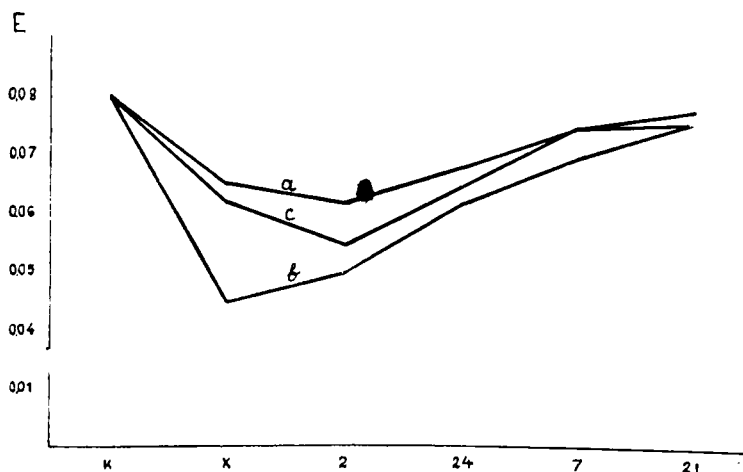


Ryc. 1. Zmiany nasilenia reakcji Feulgena (DRN) w wątrobie zwierząt napromienianych różnymi dawkami promieni X oznaczone metodą histochemiczną. Krzywe przedstawiają zmiany występujące u zwierząt napromienianych; „a” jednorazową dawką 600 r, „b” dwukrotnie dawką 600 r, „c” jednorazową dawką 1200 r. Changes in the intensity of Feulgen's reaction (DNA) in the liver of animals irradiated with different doses of X rays, determined by the histophotometric method. The curves show changes observed in animals which received: „a” single dose of 600 r; „b” repeated dose of 600 r; „c” single dose of 1200 r.

Badania histochemiczne zostały potwierdzone przez oznaczenia analityczne, w których kwas dezoksyrybonukleinowy oznaczano w reakcji *D i s c h e g o*. (Wyniki przedstawione są w tab. 1, oraz na ryc. 2, krzywa abc). Widoczny jest dość znaczny spadek DRN po dwukrotnie stosowanej dawce 600 r bezpośrednio po napromienianiu, oraz po 2 godz., i stopniowy wzrost wartości po 24 godz., oraz powrót do wartości kontrolnej po 7 i 21 dniach. Mniejszy spadek wartości obserwowano u zwierząt zabitych natychmiast po napromienianiu i w 2 godziny później po jednorazowej dawce 600 r i 1200 r.

Porównując wyniki histofotometryczne i analizy chemicznej stwierdza się, że przebieg krzywych jest podobny (ryc. 1, krzywa abc, i ryc. 2, krzywa abc), jedynie w przypadku oznaczania DRN reakcją *D i s c h e g o*, można było obserwować przesunięcie tych krzywych do wartości wyż-

szych. Wydaje się, że jest to wynikiem innej specyfiki metody. Przy oznaczeniach histochemicznych zależą one od grubości warstwy i intensywności zabarwienia preparatu, w oznaczeniach chemicznych od stężenia i grubości warstwy roztworu.



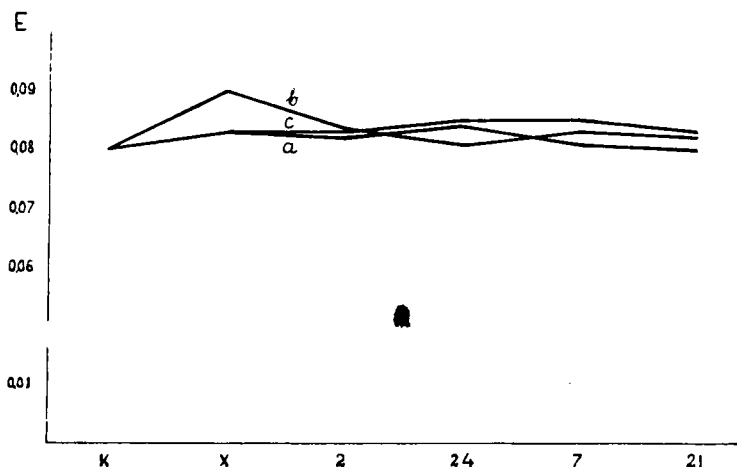
Ryc. 2. Zmiany stężenia DRN w wątrobie zwierząt poddanych działaniu promieni X oznaczone metodą fotometryczną. Krzywe przedstawiają zmiany występujące u zwierząt napromienianych: „a” jednorazową dawką 600 r, „b” dwukrotnie dawką 600 r, „c” jednorazową dawką 1200 r.

Changes in DNA concentration in the liver of animals treated with X rays, determined by the photometric method. The curves show changes observed in animals which received: „a” single dose of 600 r; „b” repeated dose of 600 r; „c” single dose of 1200 r.

Oznaczenia względnych ilości kwasu rybonukleinowego wykonane na preparatach barwionych barwnikiem Unny według metody Bracheta przy użyciu mikrofotometru wskazują, że ilości kwasu rybonukleinowego prawie nie ulegają zmianie. Niewielki wzrost wartości obserwuje się jedynie przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r natychmiast po napromienianiu. Dla pozostałych grup doświadczalnych, tj. przy jednorazowej dawce 600 r i 1200 r zmiany te w ogóle nie są stwierdzalne (wyniki przedstawia tab. 2, oraz na ryc. 3 krzywa abc).

Oznaczenia analityczne wykazały, że przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r bezpośrednio po napromienianiu, a także w 2 godz., ilości kwasu rybonukleinowego nieznacznie wzrastają, a po 24 godz. są zbliżone do wartości kontrolnej. Przy dawkach jednorazowych 600 r i 1200 r żadne zmiany nie były widoczne (tab. 2, ryc. 4, krzywa abc).

Celem sprawdzenia, czy otrzymane wyniki są statystycznie istotne zastosowano test Studenta na różnicę średnich.



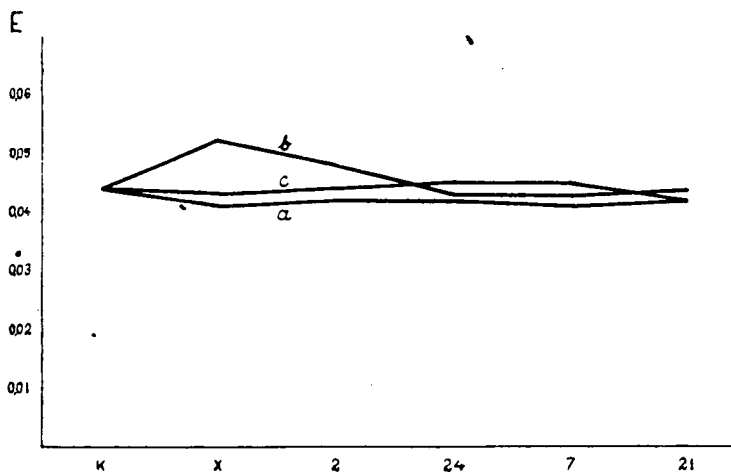
Ryc. 3. Zmiany intensywności reakcji Bracheta (RN) w wątrobie zwierząt poddawanych działaniu promieni X oznaczone metodą histofotometryczną. Krzywe przedstawiają zmiany występujące u zwierząt napromienianych „a”: jednorazową dawką 600 r, „b” dwukrotnie dawką 600 r, „c” jednorazową dawką 1200 r.

Changes in the intensity of Brachet's reaction (RNA) in the liver of animals irradiated with X rays, determined by the histophotometric method. The curves show changes observed in animals which received: „a” single dose of 600 r; „b” repeated dose of 600 r; „c” single dose of 1200 r.

Krzywe doświadczalne (abc ryc. 1, 2), wykazują znaczny spadek ilości DRN bezpośrednio i w 2 godz. po napromienianiu dla zwierząt doświadczalnych wszystkich trzech grup, tj. napromienianych dawką 600 r (krzywa a, ryc. 1, 2), dwukrotnie dawką 600 r (krzywa b, ryc. 1, 2) i jednorazową dawką 1200 r (krzywa c, ryc. 1, 2). Spadek ten we wszystkich grupach zarówno bezpośrednio po napromienianiu, jak i w dwie godziny później jest statystycznie znamienne, gdyż wartości  $t$  znacznie różnią się od wartości krytycznej ( $t_{0,05} = 2,101$ ). Największy spadek uzyskany przy dwukrotnej dawce 600 r bezpośrednio po napromienianiu wyraża się wartością  $t = 27,07$  przy  $t_{0,05} = 2,101$  w wynikach metody histofotometrycznej i  $t = 24,048$  przy  $t_{0,05} = 2,101$  w wynikach metody fotometrycznej. Po upływie 24 godzin w tych grupach doświadczalnych, spadek jest również statystycznie znamienne. Natomiast po 7 i 21 dniach wartość  $t$  wskazuje na nieistotność różnicy (tab. 1).

Krzywe doświadczalne (abc ryc. 3) wskazują, że jedynie w przypadku dwukrotnie stosowanej dawki 600 r bezpośrednio po napromienianiu i w dwie godziny później ilość kwasu rybonukleinowego wzrasta. Wzrost ten jest statystycznie istotny, gdyż bezpośrednio po napromienianiu wyraża się wartością  $t = 3,258$  przy  $t_{0,05} = 2,101$ , i po 2 godz.

$t = 2,816$  przy  $t_{0,05} = 2,101$  dla oznaczeń metody fotometrycznej, i odpowiednio  $t_1 = 7,564$ ,  $t_2 = 2,775$  przy  $t_{0,05} = 2,101$  dla metody histofotometrycznej. Natomiast we wszystkich pozostałych przypadkach wielkości  $t$  wskazują na nieistotność różnicy (tab. 2).



Ryc. 4. Zmiany stężenia RN w wątrobie zwierząt napromienianych różnymi dawkami promieni X, oznaczane metodą fotometryczną. Krzywe przedstawiają zmiany występujące u zwierząt napromienianych: „a” jednorazową dawką 600 r, „b” dwukrotnie dawką 600 r, „c” jednorazową dawką 1200 r.

Changes in RNA concentration in the liver of animals treated with different doses of X rays, determined by the photometric method. The curves show changes observed in animals which received: „a” single dose of 600 r; „b” repeated dose of 600 r; „c” single dose of 1200 r.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Wpływ promieni jonizujących na ośrodkowy układ nerwowy szczurów w dawkach jednorazowych 600 r i 1200 r, oraz dwukrotną 600 r w odstępie 24 godz. wyrażał się zmianą zawartości kwasu dezoksyrybonukleinowego (ryc. 1 i 2, krzywa abc). Zawartość kwasu rybonukleinowego ulegała tylko minimalnym zmianom (ryc. 3 i 4, krzywa abc).

Analizując przebieg krzywych abc na ryc. 1 daje się zauważyć, że we wszystkich trzech grupach następuje bezpośrednio po napromienianiu obniżenie poziomu DRN, który osiąga minimum po 2 godz., natomiast wzrost następuje po 24 godz. Po 7 dniach poziom DRN uzyskuje wartość wyjściową (kontrola). Przebieg krzywych ac ryc. 1 jest podobny, natomiast krzywa b wskazuje na większy spadek bezpośrednio po napromienianiu. Na tej podstawie można by sądzić, że mniejsze dawki stosowane dwukrotnie, mają większe działanie niż jednorazowa dawka tej samej mocy tj. 1200 r.

Tab. 1. Wyniki oznaczeń DRN metodami histofotometryczną i fotometryczną  
Results of DNA determinations by histophotometric and photometric methods

Dawka	Czas zabicia po napromienianiu	Metoda histofotometryczna			Metoda fotometryczna		
		$E_D - E_K$	t	$t_{0,05}$	$E_D - E_K$	t	$t_{0,05}$
600 r	1) bezpośrednio	-0,02	8,575	2,101	-0,015	9,805	2,101
	2) 2 godz.	-0,026	19,900	2,101	-0,180	11,956	2,101
	3) 24 godz.	-0,009	5,940	2,101	-0,012	9,273	2,101
	4) 7 dni	-0,003	1,924	2,101	-0,004	2,004	2,101
	5) 21 dni	-0,003	2,025	2,101	-0,004	1,965	2,101
2 x 600 r	1) bezpośrednio	-0,035	27,070	2,101	-0,035	24,048	2,101
	2) 2 godz.	-0,030	20,960	2,101	-0,030	22,224	2,101
	3) 24 godz.	-0,018	12,070	2,101	-0,018	12,467	2,101
	4) 7 dni	-0,002	1,463	2,101	-0,003	2,069	2,101
	5) 21 dni	-0,001	0,517	2,101	-0,003	2,069	2,101
1200 r	1) bezpośrednio	-0,021	15,410	2,101	-0,018	12,970	2,101
	2) 2 godz.	-0,031	22,860	2,101	-0,025	17,613	2,101
	3) 24 godz.	-0,019	13,890	2,101	-0,015	10,130	2,101
	4) 7 dni	-0,003	1,137	2,101	-0,004	2,002	2,101
	5) 21 dni	-0,003	1,137	2,101	-0,002	0,913	2,101

Tab. 2. Wyniki oznaczeń RN metodami histofotometryczną i fotometryczną  
Results of RNA determinations by histophotometric and photometric methods

Dawka	Czas zabicia po napromienianiu	Metoda histofotometryczna			Metoda fotometryczna		
		$E_D - E_K$	t	$t_{0,05}$	$E_D - E_K$	t	$t_{0,05}$
600 g	1) bezpośrednio	+0,003	1,947	2,101	-0,003	2,068	2,101
	2) 2 godz.	+0,003	2,055	2,101	-0,002	0,950	2,101
	3) 24 godz.	+0,005	1,913	2,101	-0,002	0,892	2,101
	4) 7 dni	+0,002	1,462	2,101	-0,003	1,376	2,101
	5) 21 dni	+0,003	2,100	2,101	-0,002	0,898	2,101
2x600 r	1) bezpośrednio	+0,010	7,546	2,101	+0,008	3,258	2,101
	2) 2 godz.	+0,004	2,775	2,101	+0,004	2,816	2,101
	3) 24 godz.	+0,001	0,715	2,101	-0,001	0,588	2,101
	4) 7 dni	+0,003	2,047	2,101	-0,001	0,581	2,101
	5) 21 dni	+0,002	1,356	2,101	0,000	0,000	2,101
1200 r	1) bezpośrednio	+0,003	2,080	2,101	-0,001	0,6944	2,101
	2) 2 godz.	+0,002	1,431	2,101	0,000	0,0000	2,101
	3) 24 godz.	+0,003	2,033	2,101	+0,001	0,6944	2,101
	4) 7 dni	+0,001	0,729	2,101	+0,001	0,6780	2,101
	5) 21 dni	0,000	0,000	2,101	-0,002	0,7906	2,101

$E_D - E_K$  = różnica średnich ekstynkcji prób właściwych i kontrolnych.  
t = wartość statystyczna odchylen ekstynkcji obliczona z danych doświadczalnych wg testu Studenta:

$$t = \frac{\bar{E}_D - \bar{E}_K}{\sqrt{\frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

gdzie  $S_1$  = wariancja w próbie doświadczalnej,  $S_1^2 = \Sigma(E_D)^2$

$S_2$  = wariancja próby kontrolnej,  $S_2^2 = \Sigma(E_K)^2$

$n_1, n_2$  = liczebności odpowiadające tym zmiennym,

$t_{0,05}$  = 2,101, wartość krytyczna dla stopni swobody.



Oznaczenia względnych ilości DRN i RN przeprowadzone dwoma metodami: mikrofotometryczną na preparatach histologicznych i analizą fotometryczną, jak również analiza mikroskopowa preparatów barwionych metodą Bracheta oraz ocena statystyczna wyników pozwoliły na dokładniejsze prześledzenie przebiegu zmian kwasów nukleinowych w komórce wątrobowej pod wpływem promieniowania X na ośrodkowy układ nerwowy.

Większe wahania w ilości kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze komórkowym można by tłumaczyć jego szczególną wrażliwością na promienie jonizujące, będące zasadniczym czynnikiem mutacyjnym, lecz wątpliwym jest by napromienianie okolicy głowy zwierzęcia można było odnieść do działania jonizującego promieniami X na komórkę wątrobową. Wydaje się, że w tym przypadku muszą istnieć mechanizmy pośrednie, wpływające na szybkość podziałów jąder komórki wątrobowej (endomitotyzacja) i na stan czynnościowy jądra. Analiza preparatów histologicznych, barwionych według metody Bracheta pozwala stwierdzić podział jąder komórkowych z jednej strony, powiększenie i rozpad niewielkiej ilości jąder z drugiej strony. Spadek ilości DRN w pierwszych godzinach po napromienianiu może wskazywać na intensywniejszy podział jąder, który prowadzi w pierwszym okresie zawsze do zmniejszenia do połowy DRN w jądrach potomnych i osiąga całkowitą reduplikację po 2—4 dobach. W naszych badaniach można to było obserwować już po 24 godz., a całkowita reduplikacja DRN wszystkich jąder występowała po 7 dniach. Można więc przypuszczać, że większość wzmożonych endomitoz i nieliczny rozpad jąder odbywa się w pierwszych godzinach po zadziałaniu promieniami X na ośrodkowy układ nerwowy szczura i że czynniki pobudzające jedne jądra komórkowe do podziału, a inne do rozpadu osiągają maximum w 2 godz. po zadziałaniu promieniami X i działają bardzo krótko. Osiągnięcie pełnej reduplikacji DRN w jądrach komórki wątrobowej po 7 dniach może wskazywać, że czynnikiem zmieniającym ilość kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrach komórkowych nie są promienie X, które jak wiemy po zadziałaniu dają trwałą zmianę zawartości DRN w chromosomach, zmieniając genetykę komórki.

Bardzo małe wahania kwasu rybonukleinowego mogą być wynikiem normalnej pracy cytoplazmy, tj. syntezy RN i związanej z nim syntezy białek i enzymów, mimo znacznych różnic w zawartości DRN (Brachet 1958, Brachet 1959). Z obrazów mikroskopowych można sądzić, że zmiany RN dotyczą przede wszystkim jąder, których ilość jak i wielkość w pierwszych godzinach po napromienianiu wzrosła wyraźnie.

Z badań Dikowienki (1958) wynika, że ilość kwasów nukleinowych w trzustce, wątrobie, szpiku kostnym i innych narządach nie

ulega zmianie po napromienianiu mózgu. Tymczasem w naszym badaniu obserwuje się przejściowy spadek DRN po napromienianiu, natomiast wartości RN nie ulegają zmianie przy jednorazowych dawkach 600 r i 1200 r w stosunku do wartości kontrolnej. W jedynym przypadku, tj. przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r bezpośrednio po napromienianiu obserwowano niewielki wzrost RN.

Obniżenie ilości DRN świadczy o wzmożonych procesach mitotycznych, w większej części jest to endomitoza, która nie pociąga za sobą wzmożonej syntezy RN i białek cytoplazmatycznych. Tylko nieliczne podziały mitotyczne komórek wątrobowych po zadziałaniu dwukrotnie dawką 600 r prowadzą do wzmożonej syntezy RN i białek.

Odmienne wyniki, uzyskane przez różnych badaczy mogą być spowodowane różnicami w dawkach napromieniania, czasem ekspozycji i okresem, który upłynął od momentu zadziałania promieniami X do zabicia zwierzęcia, a także różną radioczułością różnych tkanek poddanych napromienianiu (16, 27). Dikowienko stwierdził, że przy ostrej chorobie popromiennej występuje znacznie zmniejszony metabolizm kwasów nukleinowych tarczycy, szpiku, śledziony i śluzówki jelita cienkiego. W mózgu przemiana ta jest bardzo mała, a w wątrobie posiada zupełnie inny przebieg: podwyższenie metabolizmu i wzrost RN. Gershbein i Krotoszynski wskazali na brak zmian w poziomie kwasów nukleinowych napromienianej wątroby, tłumacząc to stosunkowo dużą jej radioopornością.

Zmniejszenie ilości DRN w tkance, jak wykazuje wielu autorów jest wynikiem zahamowania jego syntezy. Niektórzy sądzą, że nie zahamowanie syntezy, ale zmniejszenie ilości jąder wpływa na zmianę DRN oraz, że zmiany te mają charakter odwracalny przy dawce śmiertelnej (26).

Lajtha i wsp. (1958) wykazali, że synteza kwasów dezoksyrybonukleinowego i rybonukleinowego występuje tylko w ciągu ograniczonego okresu w interfazie tzw. okresu syntetycznego (S), który jest poprzedzony przez wysoce czuły okres presyntetyczny (G). Powstające zmiany w okresie G są niezbędne do rozpoczęcia syntezy DRN, a ich zahamowanie przez promienie X powoduje niemożliwość przejścia substancji wyjściowych w DRN (14).

#### WNIOSKI

1. Pod wpływem działania promieniami X na ośrodkowy układ nerwowy szczurów obserwuje się zmiany zawartości kwasów nukleinowych w komórkach wątroby. Zmiany te dotyczą głównie ilości DRN w jądrze, która przy jednorazowej dawce 600 r i 1200 r, oraz dwukrotnie stosowanej dawce 600 r w pierwszych godzinach po napromienieniu zmniejsza się oraz, że to obniżenie jest przejściowe.

2. Wyraźnych zmian ilości RN nie obserwowano. Nieznaczne odchylenie od wartości kontrolnej zauważono przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r bezpośrednio po napromienianiu.

3. Przejściowe zmiany w ilości DRN powstają prawdopodobnie w wyniku wzmożonej mitozy i nielicznych rozpadów jąder w komórce wątrobowej.

#### P I S M I E N N I C T W O

1. Bačarević A., Kačanski K., Mančić B., Hadžić L.: Effets de l'irradiation sur le métabolisme des acides nucléiques et leurs dérivés acides solubles chez le rat. *Experientia*, **12**, 23—24, 1956.
2. Brachet J.: Le rôle biologique des acides nucléiques. 1959 Edition stoops Bruxelles-Belgique.
3. Brachet J.: The effect of various metabolites and anti-metabolites on the regeneration of fragments of acetabularia mediterranea. *Exp. Cell. Res.* **14**, 650—651, 1958.
4. Brodskaja U. A., Merkułowa I. P.: O pozdnych izmieniach gołownowo mozga posle rentgenowskovo obłuczenia. *Vestnik Rentgenol. i Radiol.* **31**, 7—13, 1956.
5. Chantrenne H., Devreux S.: Formation induite de catalase et métabolisme des acides nucléiques chez la levure effet des rayons X. *Biochim. Biophys. Acta*, **31**, 134—141, 1959.
6. Dikowienko E. A.: Zmienienia obmiena nukleinowych kisłot wo wnutrennych organach pri wozdejstwi rentgenowych łuczey na gołownoj mozg. *Radiologia* **3**, 42—46, 1958.
7. Dikowienko E. A.: Zmienienia obmiena nukleinowych kisłot w organach krys posle obszczego obłuczenija rentgenowymi łuczami. *Radiologia*, **3**, 51—55, 1958.
8. Ely J. O., M. H. Ross: Nucleic acid content in intestines of rat after X-radiation. *Cancer Res.* **8**, 285—294, 1948.
9. Fautrez J., E. Pisi, G. Cavalli; Desoxyribonucleic acid content of the nucleus and nuclear volume. *Nature*, **176**, 311—312, 1955
10. Fogg L. C., R. F. Cowing: Repeat dose X-irradiation on single-type cells. *Exp. Cell. Res.* **6**, 263—271, 1954.
11. Gershbein L. L., K. Krotoszynski: Nucleic acid and succinic dehydrogenase of the liver rat after X-irradiation. *Science*, **124**, 81—82, 1956.
12. Kaufman B. P.: Chromosome aberrations induced in animal cells by ionizing radiation. *Radiation Biol.* **1**, 1954.
13. Klein G., A. Forssberg: Studies on the effect of X-rays on the biochemistry and cellular composition of ascites tumours. I. Effect on growth rate cell volume, nucleic acid and nitrogen content in the Ehrlich ascites tumours. *Exp. Cell. Res.* **6**, 211—221, 1954.
14. Lajtha L. G., R. Oliver, R. Berry, W. D. Noyes: Mechanism of radiation effect on the process of synthesis of desoxyribonucleic acid. *Nature*, **182**, 1788—1790, 1958.
15. Lowe C. E., R. N. Rand, P. R. Venkataraman: Effect of cortisone and X-radiation of RNA and glycogen content of rat hepatocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **98**, 692—696, 1958.

16. Mitchell J. S.: Disturbance of nucleic acid metabolism produced by therapeutic doses of X- and  $\gamma$ -radiation. *Brit. emp. Can. Camp.* **21**, 62—63, 1944.
17. Ord M. G., L. A. Stocken: The effect of X- and  $\gamma$ -radiation on nucleic acid metabolism in the rat in vivo and in vitro. *Biochem. Jour.* **63**, 3—8, 1956.
18. Ord M. G., L. A. Stocken: Radiobiochemical lesion in animal cells. *Nature*, **182**, 1787—1788, 1958.
19. Patt H. M., A. M. Brues: Physical and biological factors in radiation action. *Radiation Biology* N. Y.—Toronto—London Mc Graw-Hill Book Company Inc. **1**, cz. 2. 1954.
20. Pelc S. R., Effect of X-rays on the metabolism of cell nucleic of non-dividing tissues. *Nature*, **178**, 359—360, 1956.
21. Petrakis N. J., P. M. Ashler, R. L. Ferkel: Histochemical studies of the effect of total body X-irradiation in the alkaline phosphates, ribo- and desoxyribonucleic acid content of rat liver cells. *Neval Radiol. Def. Lab. Report.* AD. **126**, 1949.
22. Redesh J., M. C. Jandel, B. Chirpaz, P. Mindel: Action d'une dose unique de rayons X, locatée sur les acides nucléiques de la moelle osseuse chez le rat blanc. *Experientia* **11**, 437—438, 1955.
23. Schejde O. A., J. F. Mead, L. S. Myers: Notions on sensitivity of cells to radiation. *Science*. **123**, 1020—1022, 1956.
24. Schneider W. C.: Extraction and estimation of desoxyribopentose nucleic acid and for pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.* **161**, 293—299, 1948.
25. Thomas R. Y., S. C. Frazer: The desoxyribonucleic acid content of individual rat cell nuclei. *Exp. Cell. Res.* **6**, 367—383, 1954.
26. Toporowa G. P., N. V. Jermołajewa: Zmienenija fiziko-chemicznych swoistw dezoksyribonukleinowej kisloty tkaniej obłuczenych żywotnych. *Med. Radiol.* **3**, 24—29, 1958.
27. Whitmore G. F., J. E. Till, R. B. Gwathin, L. Simonovitek, A. F. Grah: Increased cellular constituents in X-irradiated mammalian cell. *Biochem. Biophys. Acta* **30**, 585—590, 1958.
28. Vendrely R., C. Vendrely: La teneur du noyau cellulaire en acide desoxyribonucléique à travers les organes, les individus et les espèces animales. *Experientia*, **4**, 343—346, 1948.
29. Vorbrodt K., H. Godlewski, A. Dux: Zmiany względnej zawartości kwasów nukleinowych w miejscowo napromienianym naskórku szczura. *Folia Morph.* **9**, 39—48, 1958.

### Р Е З Ю М Е

Автор в настоящей работе занимается определением количества нуклеиновых кислот в печеночной клетке крысы после облучения центральной нервной системы лучами X. Первая группа животных подвергалась однократному облучению с применением дозы 600 г, вторая группа — двукратному облучению дозой 600 г в промежутке времени 24 часа, третью группу облучали один раз принимая дозу 1200 г. Количество нуклеиновых кислот обозначалось непосредственно тотчас после облучения животного и затем спустя 2 часа, 24 часа, 7 дней и 21 день. Применяли гистофотометрический метод на гистологических препаратах а также обозначали ДНК и РНК в печеноч-

ном гомогенате, применяя метод Шнайдера. Результаты исследований, проверенные статистическим анализом, позволили автору сделать следующие выводы:

1. Под влиянием действия лучей X на центральную нервную систему наблюдаются изменения в содержании нуклеиновых кислот в клетках печени. Эти изменения относятся, главным образом, к количеству ДНК в ядре. Количество ДНК при однократном применении доз 600 г и 1200 г, а также двукратно дозы 600 г в течение первых часов после облучения уменьшается. Уменьшение количества ДНК имеет временный характер.

2. Отчетных изменений относительно количества РНК не замечено. Незначительное отклонение от контрольного количества этой кислоты наблюдалось лишь после двукратного применения дозы 600 г непосредственно после облучения.

3. Временные изменения в количестве ДНК возникают, по видимому, в результате усиленного митоза и сравнительно редкого распада ядер в печеночной клетке.

Рис. 1. Изменения в интенсивности реакции Фойлгена (ДНК) в печени животных облучаемых разными дозами лучей X, обозначенные гистофотометрическим методом. Кривые иллюстрируют изменения наблюдаемые у облучаемых животных: а — однократно дозой 600 г, б — двукратно дозой 600 г, с — однократной дозой 1200 г.

Рис. 2. Изменения в концентрации ДНК в печени животных, подвергнутых действию лучей X, обозначенные фотометрическим методом. Кривые иллюстрируют изменения, наступающие у облучаемых животных а — однократно дозой 600 г, б — двукратно дозой 600 г, с — однократно дозой 1200 г.

Рис. 3. Изменения в интенсивности реакции Браше (РНК) в печени животных подвергнутых действию лучей X, обозначенные гистофотометрическим методом. Кривые иллюстрируют изменения наблюдаемые у облучаемых животных: а — однократно дозой 600 г, б — двукратно дозой 600 г, с — однократно дозой 1200 г.

Рис. 4. Изменения в концентрации РНК в печени животных облучаемых разными дозами лучей X, обозначенные фотометрическим методом. Кривые иллюстрируют изменения, замеченные у животных облучаемых: а — однократной дозой 600 г, б — двукратно дозой 600 г, с — однократно дозой 1200 г.

## S U M M A R Y

The author studied the content of nucleic acids in the liver cells of the rat after roentgen irradiation of the central nervous system. The first group of animals received a single dose of 600 r; the second group received two doses of 600 r each in 24 hours' interval; the third group was treated with a single dose of 1200 r. The amount of nucleic acids was determined immediately after irradiation, and then after 2 hours, 24 hours, 7 days and 21 days. The histophotometric method was applied to histological preparations; DNA and RNA were determined in liver homogenate by the method of Schneider.

The results of the investigations, after statistical analysis, suggested the following conclusions:

1. After roentgen irradiation of the central nervous system of the rat, changes in the nucleic acid content of liver cells can be observed. These changes affect mainly the DNA content in the nucleus, which decreases during the first hours after irradiation with the single doses of 600 r and 1200 r, and after the repeated dose of 600 r. The decrease of the DNA content is transient.

2. No distinct changes in the RNA content were observed. Slight variations from the control value were observed immediately after the repeated dose of 600 r.

3. The transient changes in the DNA content are probably the result of increased mitosis and of the scanty instances of caryorrhexis.