

ЗАВИСИМОСТЬ ПОСТРАДИАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ
ГЕТЕРОАУКСИНА ОТ ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ

Степень изменений, вызванных облучением, может уменьшаться при действии различных химических веществ, введенных в организм как до, так и после облучения. В этом отношении лучше изучен механизм действия протекторов, испытанных до облучения. Впервые на факт пострадиационного восстановления обратили внимание А. Холлендер и Дж. Стейплтон [23]. Они обнаружили различия в выживаемости нескольких облученных штаммов *Escherichia coli* в зависимости от условий культивирования. Специалисты, признающие пострадиационное действие химических веществ, отводят им роль активаторов метаболических процессов, способствующих регенерации ткани [4, 10, 34, 39, 40, 53]. На основании опытных данных К. Свенсон и Б. Килман [16], а также А. Холлендер [22] предполагают, что пострадиационное действие химических веществ сводится к растягиванию периода реализации латентных разрывов хромосом, что дает им возможность частично репарировать их. К этому мнению присоединяется и П. Александер [31]. Наконец, считается, что эти вещества могут содействовать восстановлению исходных структур хромосом путем ликвидации разрывов [14, 27].

Трудность проблемы в целом заключается в варьировании эффекта восстановления от различных условий: концентрации протектора [2, 42, 47, 48], дозы и мощности облучения [12, 17—19, 25, 28—30, 32, 33], сопутствующих облучению факторов среды—температуры [11, 36, 38], влажности облучаемой системы [13, 15, 20, 35, 40, 41] и в значительной степени от наличия в среде кислорода [6, 49]. Усложняется вопрос и специфичностью объектов исследования [46]. В равной степени различия эти можно отнести к действию химических веществ, примененных до облучения, и распространить на пострадиационные процессы при применении их после облучения [9, 37, 45, 50—52].

В наших исследованиях защитных свойств гетероауксина— β -индолуксусной кислоты (ИУК) мы столкнулись с интересным феноменом—зависимостью эффекта пострадиационного действия гетероауксина от дозы облучения. Исследование было проведено в основном на клеточном уровне, так как учет aberrаций хромосом—чувствительный показатель стабильных изменений в поражении организма ионизирующими лучами, тем более, что как поражение, так и защита и восстановление осуществляются на клеточном уровне [6, 13].

Зависимость эффекта защиты от дозы облучения описана для ряда веществ, примененных до облучения [18, 19, 28]. Не все протекторы, однако, показывают такую зависимость. Так, например, у цистеина не выявлено такого избирательного отношения к дозе облучения. Защитное действие его зависит от концентрации вещества, но не от дозы облучения [24, 48].

Материал и методика

Сухие семена *Allium fistulosum* L. облучались рентгеновскими лучами в следующих дозах: 2,5; 5; 7,5 и 10 кр. После облучения семена помещались в раствор гетероауксина (концентрация 500 мг/г) и в воду (контроль). Через сутки семена промывались в воде, высевались в чашки Петри и ставились в термостат при 24–25°C. Фиксировались корешки длиной 4–6 мм на четвертые сутки в смеси спирт+уксусная кислота (3:1). Такая длина корешков позволяет охватить клетки в первом митозе, что было необходимо в целях нашего опыта. Корешки, в клетках которых обнаруживались микроядра, не учитывались.

Окрашивался материал ацетокармином. Готовились временные давленные препараты. Материал обрабатывался методом, описанным нами ранее [1].

Результаты и обсуждение

Структурные перестройки хромосом. Анализ полученных данных показал, что при дозах 2,5; 5; 7,5 кр гетероауксин не изменяет контрольной величины эффекта поражения. Табл. 1 показывает, что незначительная разница в процентах выхода мутирования клеток в некоторых вариантах находится в пределах ошибки и не достоверна. Значительное снижение процента клеток с поврежденными хромосомами под действием гетероауксина получено лишь при облучении 10 кр (рис. 1). Разница с контролем достоверна — $t_{diff} = 10,2$.

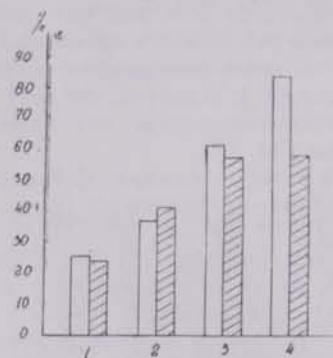


Рис. 1. Пострадиационное действие ИУК на частоту клеток с поврежденными хромосомами. Бесцветные колонки—контроль, колонки со штриховкой—ИУК. Дозы облучения: 1—2,5 кр; 2—5 кр; 3—7,5 кр; 4—10 кр.

Обращает на себя внимание тот факт, что действие гетероауксина снижает эффект поражения при дозе облучения 10 кр до уровня действия дозы 7,5 кр без применения вещества. Отношения этих доз—кзд равно 1,3 (сравните: у животных кзд не превышает 2).

Обсуждаемые данные относятся к опыту, по условиям которого семена замачивались сразу после облучения. Иная картина получается, когда семена замачиваются через некоторое время после облучения (табл. 2).

В этом случае в варианте с дозой облучения 5 кр замачивание семян через сутки после облучения несколько повышает уровень выхода измененных анафаз. При дозе облучения 10 кр задержка замачивания на сутки оказывает летальный эффект, семена не прорастают. А задержка даже на 10 минут после облучения имеет свое определяющее воздействие на процессы, протекающие в облученных клетках. В этом случае гетероауксин не проявляет восстановительного действия, которое было обнаружено при замачивании сразу после облучения (рис. 2). Даже замечается некоторое увеличение мутирования клеток в контроле. Десяти минут, а может быть и меньшего времени бывает достаточно для реализации изменений хромосом. И в контроле, и при действии ИУК результаты несколько не отличаются друг от друга. Более того, даже замачивание в воде несколько изменяет картину поражения клеток. Если

Таблица 1

Пострадиационное действие ИУК на степень лучевого поражения клеток
Allium fistulosum при разных дозах облучения

Вариант	Число		Измененных анафаз	Процент измененных анафаз	Досто- верность разницы
	кореш- ков	ана- фаз			
2,5 кр+вода	22	910	227	$24,9 \pm 1,4$	—
2,5 кр+ИУК	9	418	99	$23,7 \pm 2,0$	0,47
5 кр+вода	22	1008	309	$30,6 \pm 1,5$	—
5 кр+ИУК	18	716	293	$40,9 \pm 1,8$	1,81
7,5 кр+вода	16	533	352	$66,0 \pm 2,0$	—
7,5 кр+ИУК	9	344	211	$62,2 \pm 2,6$	1,16
10 кр+вода	21	607	510	$84,0 \pm 1,4$	—
10 кр+ИУК	23	595	349	$58,6 \pm 2,0$	10,2

Таблица 2

Зависимость частоты клеток с aberrациями хромосом от продолжительности между
 облучением и замачиванием семян в ИУК и воде

Вариант	Время после облучения до замачивания	Ч и с л о		Процент анафаз с абerrаци- ями хро- мосом
		анафаз	анафаз с абerrациями	
5кр+вода	24 часа	274	119	$43,4 \pm 2,9$
5кр+ИУК	24 часа	119	61	$51,2 \pm 4,5$
10кр+вода	10 мин.	186	170	$91,0 \pm 2,0$
10кр+ИУК	10 мин.	262	237	$90,5 \pm 1,8$
10кр+вода	24 часа	Семена не проросли		
10кр+ИУК	24 часа			

при замачивании сразу после облучения имеется $84 \pm 1,4\%$ поврежденных клеток, то задержка замачивания повышает этот показатель до $91,0 \pm 2,0\%$ ($t_{diff} = 2,9$).

Данные по спектру типов мутаций хромосом показывают, что раствор 500 мг/л ИУК не вызывает изменений в соотношении ацентрических фрагментов к дицентрикам. В наших работах как по защите при испытании до облучения, так и по мутагенной активности гетероауксина показана специфичность действия этого вещества на процессы соединения поврежденных концов хромосом. В данном эксперименте это явление не обнаруживается (табл. 3).

Известно, что с увеличением дозы облучения увеличивается не только число поврежденных клеток, но и степень поврежденности каждой клетки. Анализ степени поврежденности клеток по вариантам настоя-

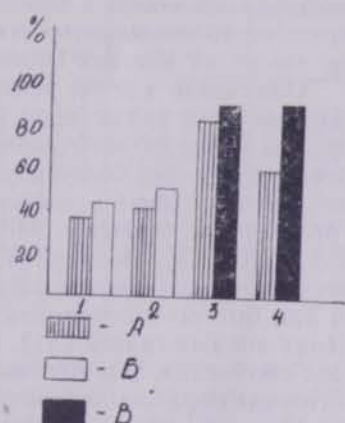


Рис. 2. Зависимость пострадиационного действия ИУК на частоту мутирования клеток от времени замачивания семян после облучения. А—сразу после облучения, Б—через 24 часа, В—через 10 мин., 1—5 кр+вода, 2—5 кр+ИУК, 3—10 кр+вода, 4—10 кр+ИУК.

шего опыта проведен с учетом среднего числа структурных перестроек хромосом на поврежденную клетку, а не на просмотренную клетку. Имелось в виду то обстоятельство, что увеличение процента неповрежденных клеток выражает поклеточное восстановление, в то время как изменение соотношения числа клеток с 1, 2, 3...6 и более перестройками выражает частичное восстановление повреждений хромосом, что необходимо знать для объяснения действия ИУК.

Таблица 3

Соотношение типов структурных перестроек хромосом при пострadiационном действии гетеродуксина на семена *Allium fistulosum*

Вариант		Число перестроек хромосом	Из них следующих типов (в % от суммы)		
доза облучения кр	ИУК, мг/л		ацентрические фрагменты	хроматидные дисцентрики	хромосомные дисцентрики
2,5	Вода	347	65,8±2,5	15,8±1,9	18,4±2,0
	500	169	69,2±3,5	8,9±2,1	21,9±3,1
5	Вода	593	58,8±2,0	19,2±1,6	22,0±1,7
	500	485	56,0±2,2	17,6±1,7	26,4±2,0
7,5	Вода	706	65,6±1,7	10,9±1,1	23,5±1,5
	500	426	59,9±2,3	13,8±1,6	26,3±2,1
10	Вода	1051	61,2±1,5	17,4±1,1	21,4±1,2
	500	651	61,6±1,9	17,1±1,4	21,3±1,6

Данные, приведенные в табл. 4, показывают, что средняя поврежденность клеток при действии ИУК почти не изменяется в двух вариантах—при облучении дозами 5 и 7,5 кр. При облучении дозой 2,5 кр раствор ИУК даже способствует реализации большего количества повреждений. А в варианте с облучением дозой 10 кр замачивание семян в ИУК почти на 10% снижает среднюю поврежденность клеток (2,06 аберраций на поврежденную клетку в контроле, 1,86—при применении ИУК), причем эта разница осуществляется за счет частичного восстановления повреждений хромосом в клетках с большим числом повреждений. Здесь имеет место локально-независимое восстановление хромосом, отмеченное также на клетках бобов В. П. Парибоком с соавторами [14].

Облучение клеток рентгеновыми лучами индуцирует в хромосомах разрывы двух видов: одна группа разрывов остается в лабильном состоянии непродолжительное время (несколько секунд), другая—стабилизируется через более длительный срок, продолжительность которого зависит от объекта исследования [9]. Н. Кон обнаружил такое явление в облученных корешках *Allium scera* L. [37], Ш. Вольф—в клетках *Vicia faba* L. [50, 52]. Последний предполагает, что более длительное лабильное состояние является следствием поражения ковалентных связей, тогда как быстро воссоединяющиеся разрывы являются следствием поражения ионных связей [51]. В этой связи следует отметить, что чем выше доза облучения, тем глубже повреждения и тем дольше неустойчивое состояние пораженной системы [9].

Облучение семян *A. fistulosum* дозой 10 кр вызывает в клетках повреждения, требующие для своей стабилизации более длительного времени, чем при более низких дозах. Поэтому замачивание семян сразу после облучения создает возможность для участия ИУК в пострadiационных процессах восстановления хромосом, что способствует как поклеточному, так и частичному оздоровлению клеток и их популяции. Даже десятиминутная задержка замачивания семян после облучения, на-

оборот, создает возможность для стабилизации как быстросоединяющихся разрывов, так и для другой группы, которая остается открытой более длительное время.

Таблица 4

Степень поврежденности хромосом при облучении и постраднационном действии гетероауксина

Варианты	Число ана- фаз с пере- стройками	Число пе- рестроек	Среднее чи- сло пере- строек на клетку	Число клеток, имеющих следующее к-во перестроек (на 100 клеток)					
				1	2	3	4	5	6 и более
2,5 кр+вода	227	347	1,52	66	23	7	3	1	0
2,5 кр+ИУК	99	168	1,70	55	27	14	4	0	0
5 кр+вода	369	593	1,60	52	30	11	4	0	3
5 кр+ИУК	293	485	1,65	55	30	8	3	2	2
7,5 кр+вода	352	706	2,00	41	27	13	8	3	8
7,5 кр+ИУК	214	426	1,99	35	33	17	4	4	7
10 кр+вода	510	1051	2,06	41	26	19	5	7	2
10 кр+ИУК	349	651	1,86	53	26	13	4	2	2

Прорастание семян и начальный рост корешков. Анализ прорастания семян и начального роста корешков показал, что по данному тесту имеются совершенно иные закономерности, отличающиеся от выявленных в отношении мутирования хромосом. В нашем эксперименте ростовые процессы не зависят от дозы облучения (табл. 5). При всех дозах замечается тенденция усиления ингибирующего действия гетероауксина на процессы роста.

Таблица 5

Динамика прорастания и начальный рост корешков при постраднационном действии гетероауксина

Вариант	Число семян	% проросших семян		Средняя дли- на кореш- ков, мм (на 5-е сутки)
		на четвер- тые сутки	на пятые сутки	
Контроль (без обл.)	200	47,1±3,5	70,0±3,2	55,50±0,31
2,5 кр+вода	900	13,7±1,1	24,0±1,4	4,25±0,24
2,5 кр+ИУК	900	6,7±0,8	17,0±1,2	2,88±0,20
5 кр+вода	900	9,4±0,9	24,3±1,4	3,58±0,22
5 кр+ИУК	900	8,0±0,9	16,1±1,2	3,04±0,17
7,5 кр+вода	900	12,4±1,0	25,5±1,4	4,58±0,24
7,5 кр+ИУК	900	10,4±1,0	22,4±1,4	3,28±0,20
10 кр+вода	900	11,8±1,1	21,5±1,4	4,81±0,26
10 кр+ИУК	900	10,9±1,0	20,0±1,3	3,56±0,20

Начальное удлинение корешков, характеризующееся в значительной степени фазой растяжения клеток, зависит от деятельности гетероауксина, накапливающегося при прорастании семян [26]. Облучение приводит к поражению системы, синтезирующей ауксина [5, 8], что в нашем опыте замечается уже при облучении дозой 2,5 кр, и ее дальнейшее увеличение особого значения не имеет. Внесение гетероауксина не улучшает состояния корешков, а, наоборот, усиливает тормозящее действие облучения (рис. 3). Таким образом, взятый раствор ИУК не оказывает защитного действия на процессы прорастания и начального роста корешков даже в условиях, способствующих проявлению его восстановительного действия на хромосомы. Это можно считать специфическим

проявлением, так как для других агентов выявлена корреляция между защитой наследственных структур и стимуляцией процессов роста растений [3, 2]. Однако ряд авторов считает это явление лишь кажущимся соответствием [44].

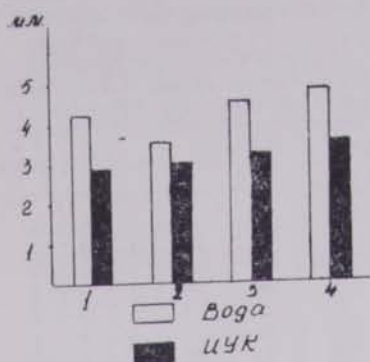


Рис. 3. Ингибирование роста корней при пострadiaционном действии ИУК. Варианты: 1—2,5 кр; 2—5 кр; 3—7,5 кр; 4—10 кр.

ток костного мозга соотношения поврежденных и неповрежденных клеток, что маскирует действие протектора.

На клеточном уровне В. И. Сусликовым [18] выявлена иная закономерность—монотонный спад уровня защиты с увеличением дозы облучения. Но этот факт не подтвердился исследованиями Н. П. Дубининой и Л. Г. Дубининой [7] на культуре ткани человека.

Анализ наших данных дает картину обратной зависимости снижения уровня мутирования хромосом от дозы облучения. В основе разнообразия данных разных исследователей могут лежать различия в свойствах примененных в каждом случае веществ, режима облучения и объекта исследования.

Выводы

При применении после рентгенооблучения гетероауксин оказывает восстановительное действие, снижая выход поврежденных клеток. Происходит как клеточное, так и локальное восстановление, причем эффект гетероауксина наблюдается лишь при определенной, довольно высокой дозе облучения, индуцирующей 80—90% клеток с аберрациями хромосом. Зависимость восстановительного эффекта гетероауксина от дозы облучения находится в связи с фактом длительного лабильного состояния поврежденных хромосом, индуцированных высокой дозой облучения. Это дает возможность раствору гетероауксина проникнуть в клетки и принять участие в пострadiaционных процессах становления перестроен хромосом, чего не происходит при более низких дозах облучения, так как в этом случае повреждения хромосом стабилизируются быстрее.

При задержке замачивания семян после облучения гетероауксин не проявляет восстановительных свойств. Это свидетельствует о том, что за время между облучением и замачиванием семян пострadiaционное состояние пораженной генетической системы клетки успевает стать устойчивым и не подвергается изменению под действием гетероауксина.

Эффект пострadiaционного действия гетероауксина на прорастание

семян и рост корешков в первом митозе не коррелирует с его восстановительными свойствами, проявляющимися на уровне хромосом.

Լ. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ

Հետերոօւսինի ՀետՃառ-Արմատիզացիայի Ազդեցութիւնը
ԿԱԿՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՌԱՐԱՅԻՄԱՆ ԳՈՉԱՅԻՑ

Ա մ փ օ փ ու մ

Քրոմոսոմների կազմության վերակառուցումների անափազային վերլուծության մեթոդով հայտնաբերված է, որ հետերոօսինի հետճառազայթման էֆեկտը կախված է ճառազայթման տարրեր ղողաներից:

Allium fistulosum L. տեսակի սերմերը 2,5; 5; 7,5; 10 կՌ ղողաններով ճառազայթահարելու և այնուհետև հետերոօսինի լուծույթներով թրջելու դեպքում, պարզվել է, որ վնասված քրոմոսոմներ պարունակող բջիջների տոկոսի պակասում նկատվել է միայն 10 կՌ ղողայով ճառազայթահարված տարրերակում: Պաշտպանության մակարդակն է 33,3 %, ղողայի իջեցման կոէֆիցիենտը՝ 1,3:

Պարզված է նաև, որ հետերոօսինի էֆեկտը որոշակի կախված է սերմերի ճառազայթահարման և թրջման միջև բնկած ժամանակամիջոցից: Թրջման ուշացումը խոչընդոտում է պրոեկտորի պաշտպանական գործունեությունը:

L. A. ARARATYAN

POST-IRRADIATION EFFECT OF HETEROAUXIN DEPENDING ON
THE X-RAYS DOSES

Summary

By applying the method of anaphasic analysis of chromosome aberration, the effect of post-irradiation of heteroauxin was seen to be depending on the different doses of irradiation. When seeds of *Allium fistulosum* L. species were irradiated with doses of 2.5, 5, 7.5, 10 kX-rays and then wetted with a solution of heteroauxin, a decrease in the percentage of cells containing injured chromosomes was noted only in the variant of the 10 kX-rays dose. Protection level is 33.3%, coefficient of subsidence of dose is 1.3.

It was also noted that effect of heteroauxin is definitely dependent on the time elapsing between the irradiation and wetting of seeds. Delaying of wetting hinders the protective action of the projector.

ЛИТЕРАТУРА

1. Араратян Л. А. Биологический журн. Армении, т. 20, № 9, 1967, 48—57.
2. Барнс Д., Лаутит Дж. В кн.: «Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм», М., 1958, 178.

3. Валева С. А. Радиобиология, т. VII, вып. 2, 1967, 285—288.
4. Вольф Ш. В кн.: «Радиационная защита и восстановление», Атомиздат, 1964, 164—181.
5. Гордон А. В кн.: «Материалы международной конференции по мирному использованию атомной энергии, Женева, 1955», Изд. мед. лит.-ры, М., 1958, 348—358.
6. Грей Л. Х. В кн.: «Первичные и начальные процессы биологического действия радиации», Изд. АН СССР, 1963, 20—35.
7. Дубинин Н. П., Дубинина Л. Г. Радиобиология, т. 4, вып. 6, 1964, 854—861.
8. Дэвидсон Д. В кн.: «Радиационная защита и восстановление», Атомиздат, 1964, 182—220.
9. Ивэнс Х. Повреждения хромосом ионизирующими излучениями. Атомиздат, М., 1966.
10. Корогодин В. И. Радиобиология (информац. бюллетень), № 8, 1965, 52—54.
11. Лобашев М. Е. Генетика, изд. ЛГУ, 1967.
12. Мозжухин А. С., Антипенко Е. Н., Мохалова О. К., Михайлова Э. Г., Павлова Л. М., Таик Л. И. В сб.: «Восстановительные процессы при радиационных поражениях», Атомиздат, М., 1964.
13. Нуждин Н. И., Филев К. А. ДАН СССР, 160, № 1, 1967, 224.
14. Парибок В. П., Крупнова Г. Ф., Волкова З. М. Цитология, т. IX, № 9, 1968, 1118—1126.
15. Порядкова Н. А. В кн.: «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений», М., 1963, 207—212.
16. Свенсон К., Климан Б. В кн.: «Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм», ИЛ, 1958, 291—303.
17. Сташков А. М., Короткова В. П. Радиобиология, т. 3, вып. 2, 1963, 281—285.
18. Сусликов В. И. Радиобиология, 3, вып. 2, 1963, 247—255.
19. Сусликов В. И. Радиобиология (информац. бюллетень), 9, 1966, 92—99.
20. Фесенко Э. В., Порядкова Н. А. Радиобиология, т. 6, вып. 5, 1966, 734—740.
21. Хвостова В. В., Эльшунин К. А. Радиобиология, т. 5, вып. 1, 1965, 136—139.
22. Холлендер А. В кн.: «Первичные и начальные процессы биологического действия радиации», М., 1963, 150—156.
23. Холлендер А., Стейплтон Дж. В кн.: «Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм», ИЛ, 1958, 154—177.
24. Царапкин Л. С. В сб.: «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений», М., 1963, 213—217.
25. Царапкин Л. С., Царапкина К. А. Радиобиология (информац. бюллетень), 10, 1967, 79—82.
26. Цингер Н. В. Семя, его развитие и физиологические свойства. Изд. АН СССР, М., 1958.
27. Эйзенберга В. Т., Дишлер В. Я., Розенберга П. С. Известия АН ЛатвССР, № 6 (251), 1968, 71—79.
28. Ярмоненко С. П. Вестник АМН СССР, 7, 1964, 66—76.
29. Ярмоненко С. П. Радиобиология (информац. бюллетень), 1965, 8, 38.
30. Ярмоненко С. П. Радиобиология, т. 7, вып. 1, 1967, 100—104.
31. Alexander P. Nova Acta Leopold, 31, N 177, 1966, 131—151.
32. Beatty A. V., Beatty J. W. Amer. J. Bot., vol. 43, N 5, 1956, 325—328.
33. Beatty A. V., Beatty J. W., Collins C., Amer. J. Bot., vol. 43, N 5, 1956, 328—332.
34. Butler A. V. In: Radiobiology Symposium, London, 1954.
35. Caldecott R., Smith L. Genetics, 37, 1952, 136—157.
36. Catcheside D. G. Advances Genetics, 2, 1948, 271.
37. Cohn N. Genetics, 43, 1958, 362—373.
38. Ehrenberg L. In: Radiobiology Symposium, 185, London, 1954.
39. Gauden M. E. Genetics, 41, 1955, 645.
40. Gustafsson A. 1937, Hereditas, 22, 281—335.
41. Herskowitz J. H. Genetics, 44, 1959, 329.

42. Jacobson L. O., Simmons E. L., Mauks E. K., Gaston E. O., Robson M. J. and Eldredge J. H. *J. Lab. Clin. Med.*, 37, 1951, 683.
43. Kimball R. F. *Radiation Res.*, 9, 1958, 158-159.
44. Kimball R. F., Gaither N., Wilson S. M. *Radiation Res.*, 7, 3, 1957, 325.
45. Kirby-Smith J. S., Dolphin G. W. *Nature*, 182, 1958, 270.
46. Lüning K. G., Hanners B. *Hereditas*, 43, 3-4, 1957, 548.
47. Mikaelson R. In: *"Radiobiology Symposium"*, 316, 1954, London.
48. Patt H. M. In: *"Radiobiology Symposium"*, 105, 1954, London.
49. Swanson C. P., Johnston A. H. *Amer. Nat.*, 88, 1954, 425-430.
50. Wolff S. *Nature*, 1954, 173, 501.
51. Wolff S. In: *Advances in Radiobiol.*, Edinburgh, 1957, 463-470.
52. Wolff S. *Amer. Nat.*, 94, 874, 1960, 85-93.
53. Wolff S., Luippold H. E. *Science*, 1955, 122, 231-232.