

Р. Р. АТАЯН

ПЕРВИЧНЫЕ ЛУЧЕВЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И ВЛИЯНИЕ НА ИХ ВОССТАНОВЛЕНИЕ УСЛОВИЙ ПОСТРАДИАЦИОННОГО НАМАЧИВАНИЯ СЕМЯН

В настоящей статье изложены результаты опытов по установлению влияния пострadiaционного намачивания семян в воде, насыщенной кислородом или азотом, на выход цитогенетических повреждений.

Материал и методика. Опыты ставились на покоящихся семенах гороха сорта «Улучшенный пилот». Влажность семян к началу облучения была 15%. Облучение, проращивание и изготовление цитологических препаратов производилось так же, как и в предыдущих опытах. Немедленно после облучения семена помещались в специальные цилиндры с дистиллированной водой, через которые пропускался кислород или азот (содержание кислорода не более 10^{-5} на единицу объема). Применялись четыре варианта пострadiaционной обработки: 1) семена выдерживались в атмосфере кислорода в течение 4 час.; 2) семена выдерживались в атмосфере кислорода в течение 30 мин., а затем в течение 3 час. 30 мин.— в атмосфере азота; 3) семена выдерживались в атмосфере азота в течение 4 час.; 4) семена выдерживались в течение 30 мин. в атмосфере азота, а затем в течение 3 час. 30 мин.— в атмосфере кислорода. Кривые время-эффект были получены для относительно слабой дозы облучения в 10 килорентген.

Результаты опытов. В опытах с облучением семян гороха гамма-лучами выяснено, что восстановление клеток от лучевых повреждений обусловлено в основном восстановлением фрагментов, хотя восстанавливаются и мосты [4]. В настоящих опытах мы не наблюдали восстановления мостов ни в одном случае. Восстановление поврежденных клеток осуществлялось только за счет фрагментов. Поэтому в дальнейшем мы рассматриваем кривые время-эффект только для фрагментов и клеток с фрагментами.

Из представленной таблицы видно, что процент первично поврежденных клеток изменяется со временем крайне незначительно, изменения эти носят характер колебаний вокруг определенного среднего значения. Результаты регрессионного анализа показывают, что процент первично поврежденных клеток практически не изменяется со временем в течение первого пострadiaционного митоза. Процент первично пораженных клеток в среднем примерно одинаков во всех вариантах опыта. Это показывает, что условия пострadiaционного намачивания не влияют на степень первичного поражения.

Процент клеток с реализованными повреждениями в первой точке

Таблица

Влияние кислорода в период намачивания на число фрагментов, первично пораженных клеток и клеточное восстановление при облучении покоящихся семян гороха в дозе 10 кр

Вариант	Время фиксации (часы)	Клетки с фрагментами (%)	Число фрагментов (на 100 клеток)	Среднее число фрагментов на 1 клетку с фрагментами	% первичных поврежденных клеток	% клеток с реализованными повреждениями	Клеточное восстановление (%)
Кислород	57	55,6±1,9	90,8±3,5	1,63	66	84,2	15,8
	61	41,9±1,8	67,2±3,0	1,60	64	65,5	34,5
	65	32,1±1,7	51,3±2,6	1,59	64	50,1	49,9
	69	20,9±1,5	31,7±2,1	1,51	59	35,4	64,6
	73	14,0±1,3	21,5±1,7	1,53	60	23,3	76,7
Кислород+азот	57	58,3±1,8	93,1±3,5	1,59	64	91,1	8,9
	61	45,7±1,9	71,3±3,1	1,56	62	73,7	26,3
	65	32,9±1,7	53,1±2,7	1,61	65	50,6	49,4
	69	26,9±1,6	42,4±2,4	1,57	63	42,7	57,3
	73	19,7±1,5	30,8±2,1	1,56	62	31,8	68,2
Азот	56	32,7±1,7	52,1±2,7	1,59	64	51,1	48,9
	60 ¹⁵	31,6±1,7	48,1±2,5	1,52	60	52,7	47,3
	64 ³⁰	23,5±1,6	46,0±2,5	1,61	65	43,8	56,2
	68 ⁴⁵	30,7±1,7	49,9±2,6	1,62	65	47,2	52,8
	73	29,3±1,6	45,6±2,5	1,55	61	48,0	52,0
Азот+кислород	55	34,3±1,7	55,2±2,7	1,60	64	53,6	46,4
	59 ³⁰	26,9±1,6	42,0±2,4	1,56	62	43,4	56,6
	64	20,9±1,5	35,2±2,2	1,68	68	30,7	69,3
	68 ³⁰	18,0±1,4	28,4±1,9	1,57	63	28,6	71,4
	73	15,3±1,3	23,6±1,7	1,54	61	25,1	74,9

фиксации достаточно высок (около 90%) и находится примерно на одном уровне в вариантах «кислород» и «кислород+азот». В вариантах «азот» и «азот+кислород» он также находится примерно на одном уровне (около 50%). Таким образом, при намачивании семян в атмосфере кислорода начальный выход (мы имеем в виду выход в первой временной точке фиксации, соответствующей началу первого пострадиационного митоза) хромосомных aberrаций значительно выше, чем при намачивании в атмосфере азота. Во всех случаях первичный выход радиационного поражения один и тот же. При намачивании в кислороде высокий выход хромосомных aberrаций является результатом пострадиационного перехода в завершённое состояние повреждений, имевших первоначально незавершённый характер. При намачивании в азоте уменьшенный выход хромосомных aberrаций не имеет связи с процессами пострадиационного восстановления, а является отражением элиминации индуцированных облучением состояний, имевших первоначально незавершённый характер. В. И. Корогодин отмечает, что «допущение о механизме пострадиационного восстановления, препятствующем допоражению частично поврежденных структур, далеко от действительности» [3].

Пострадиационное намачивание семян в течение 4 час. в атмосфере азота приводит к полному, или почти полному, снятию эффекта восстановления ($b = -0,0102 \pm 0,0097$, $t = 1,054$, $P > 0,2$). В варианте «азот+кислород» имеет место интенсивное восстановление ($b = -0,0840 \pm 0,0118$,

$t=7,099$, $P<0,01$). К концу первого митоза процент клеток с реализованными повреждениями в этом варианте достигает 25, а восстановление—75%. Эффект этот является следствием наложения двух независимых процессов — элиминации и клеточного восстановления. Процент клеток с реализованными повреждениями в вариантах «кислород» и «кислород+азот» падает в три и более раза от первой точки фиксации и последней ($b=-0,1383\pm 0,0089$, $t=15,46$, $P<0,001$; $b=-0,1151\pm 0,0071$, $t=16,28$, $P<0,001$). Это приводит к заключению, что присутствие кислорода в течение первых часов намачивания является необходимым условием для осуществления процессов пострадиационного восстановления.

Обсуждение и выводы. Радиочувствительность является сложным понятием, включающим в себя три независимых фактора: первичную поражаемость, процессы развития первичного повреждения и восстановление [1]. Такое «разложение» радиочувствительности на отдельные компоненты позволяет полнее оценить причины ее изменения в тех или иных экспериментальных ситуациях. Л. С. Царапкин и др. указали на несколько возможных путей изменения радиочувствительности на генетическом уровне: уменьшение первичной поражаемости клеток; повышение вероятности восстановления клетки в целом; повышение вероятности локального восстановления [10]. Обсуждая эти возможности, они приходят к заключению, что в радиационно-генетических опытах на горохе поклеточное восстановление преобладает, хотя и изменение вероятности локального восстановления может играть существенную роль [12]. Понижение радиочувствительности при защитном эффекте связано как с уменьшением числа первичных поражений, так и с повышением вероятности восстановления. Н. А. Порядкова показала, что изменение влажности семян не отражается на выходе первичных повреждений, а лишь на степени восстановления [5, 6]. К такому же выводу пришла Э. В. Фесенко, изучавшая эффект хранения и влияние на радиочувствительность семян переноса в другую атмосферу [8, 9]. П. Д. Усманов показал, что радиочувствительность не зависит от пострадиационных температурных условий, а разный выход цитогенетических повреждений обусловлен влиянием температур на процессы пострадиационного восстановления [7]. Основной причиной изменения радиочувствительности в процессе набухания и прорастания семян являются, как показала Л. К. Шищенко-ва, изменяющиеся условия пострадиационного восстановления, а изменения первичной радиочувствительности незначительны [13]. Л. С. Царапкин, изучая влияние цистеина на процессы пострадиационного восстановления, пришел к заключению, что на разных фазах клеточного цикла клетки обладают одинаковой первичной радиочувствительностью, а защитное действие цистеина заключается в ускорении спонтанного клеточного восстановления [11]. Там же показано, что наблюдаемый в этих опытах цитогенетический эффект складывался из двух факторов — первичного поражения и двух процессов репарации: локального и клеточного восстановления. В наших опытах температурные шоки не влияют на первичную поражаемость [2]. То же самое мы наблюдали в кислород-

ных опытах — степень первичного поражения одинакова во всех вариантах опыта.

Начальный выход хромосомных aberrаций в большой степени зависит от условий пострадиационного намачивания семян (кислород или азот), но это связано не с восстановлением потенциальных повреждений в результате репарационных процессов, а с процессами развития лучевого повреждения. Далее, мы наблюдали значительное уменьшение выхода цитогенетических повреждений со временем в течение первого митоза (при намачивании семян в азоте этого не наблюдается). Чем позже фиксируется материал, тем меньше конечный выход радиационного поражения. Этот результат объясняется восстановлением потенциальных повреждений хромосом, вероятность которого повышается с увеличением времени от облучения до вступления клеток в митоз. Выход радиационного поражения в противоположность величине первичного поражения является показателем, изменение которого со временем чувствительно к воздействию сопутствующими факторами. Процесс спонтанного восстановления ускоряется под влиянием температурных шоков (которые способствуют восстановлению даже при достаточно высоких дозах облучения) и под влиянием кислорода. Таким образом, и температурные шоки, и парциальное давление кислорода в период намачивания семян влияет на радиочувствительность, однако влияние это распространяется лишь на восстановление обратимых первичных повреждений хромосом. Со временем уменьшается и среднее число фрагментов, и процент клеток с фрагментами так, что отношение числа фрагментов к числу клеток с фрагментами не изменяется — среднее число фрагментов на одну клетку с фрагментами остается величиной постоянной в пределах первого пострадиационного митоза. Очевидно, в нашем случае восстановление осуществляется согласно клеточному механизму. Следовательно, температурные шоки и кислород не взаимодействуют с отдельными первичными потенциальными повреждениями, а эффективны за счет изменения реакции клетки в целом.

Сопоставление полученных нами результатов с литературными данными позволяет сделать некоторые обобщения. Как мы убедились, принципиально одинаковые результаты получены в самых разнообразных радиационно-генетических опытах на горохе. В этих опытах изучалось влияние на выход цитогенетических повреждений таких физико-химических и физиологических факторов, как химические вещества, физиологически нормальные температуры и температурные шоки, кислород, влажность, старение.

Основной вывод, следующий из этих работ, сводится к тому, что сопутствующие облучению факторы могут оказывать влияние на конечный выход индуцированных облучением хромосомных aberrаций. Как правило, сопутствующие факторы не влияют на первичную радиочувствительность, а воздействуют на интенсивность процессов пострадиационного восстановления. В зависимости от присутствия или отсутствия кис-

лорода в начальный период намачивания семян имеет место значительное изменение радиочувствительности, обусловленное процессами развития первичного повреждения. Во всех этих работах показано также, что восстановление первичных локальных потенциальных повреждений осуществляется в основном за счет клеточного восстановления, а независимое восстановление может играть существенную роль лишь в редких случаях.

Армянский институт земледелия,
лаборатория биофизики

Поступило 24.VI 1967 г.

Ռ. Ռ. ԱՔԱՅԱՆ

ԱՌԱՋՆԱՏԻՆ ԶԱՌԱԳՍՅՔԱԶԱՐՈՒՄԸ ԵՎ ԵՐԱՆՑ
ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ ԱՉԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԵՐՄԵՆԻ
ՉԵՏՃԱՌԱԳԱՅՔԱՅԻՆ ԹՐՉՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հանդատի փնտհեում զտեղող ոլոսի սերմերը սենտզենյան ճառագայթներով ճառագայթահարելուց անմիջապես հետո թրջվել են թթվածնով կամ ազոտով հագեցված ջրում: Քրոմոսոմային խաթարումների էլքն ուսումնասիրվել է ֆերման տարրեր ժամկետներում: Ծառագայթահարումից հետո առաջին միտոսի ընթացքում: Հաշվառարային ճանապարհով որոշվել է առաջնային վնասված բջիջների տոկոսը: Ցույց է տրվել, որ թթվածնով և ազոտով հագեցված ջրում հետճառագայթային թրջումը չի ազդում առաջնային ճառագայթահարման վրա: Թրջման առաջին ժամերին թթվածնի առկայությունը անհրաժեշտ է վերականգման պրոցեսների համար: Ազոտի միջավայրում սերմերի թրջումը հանգեցնում է վերականգման պրոցեսի վերացմանը:

Նայած թթվածնի առկայությանը կամ բացակայությանը, սերմերի թրջման սկզբնական շրջանում տեղի է ունենում ուղղիտղղայնությունից դժարի փոփոխություն, որը պայմանավորված է առաջնային ճառագայթահարման պրոցեսների դարգացմամբ: Քրոմոսոմային խաթարումների վերականգնումը տեղի է ունենում ըստ բջիջների:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Александров В. Я. Изв. АН СССР, серия биол., 4, 89, 1952.
2. Атаян Р. Р. ДАН Арм. ССР (в печати).
3. Корогодин В. И. Проблемы пострadiационного восстановления, М., Атомиздат, стр. 100, 1966.
4. Лучник Н. В., Изможеров Н. А., Порядкова Н. А., Царапкии Л. С., Тимофеев-Ресовский Н. В. Обратимость цитогенетических повреждений, вызванных радиацией, М., АН СССР, 1960.
5. Порядкова Н. А. ДАН СССР, 134, 706, 1960.
6. Порядкова Н. А. В кн.: Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений. М., Изд-во АН СССР, стр. 207, 1963.
7. Усманов П. Д. Генетика, 4, 105, 1966.

8. Фесенко Э. В. В кн.: Защита и восстановление при лучевых повреждениях. М., Наука, стр. 155, 1966.
9. Фесенко Э. В., Порядкова Н. А. Радиобиология, 4, 734, 1966.
10. Царапкин Л. С., Порядкова Н. А., Шишеникова Л. К. В кн.: Экспериментальный мутагенез животных, растений и микроорганизмов. М., стр. 22, 1965.
11. Царапкин Л. С. В кн.: Защита и восстановление при лучевых повреждениях. М., Наука, стр. 134, 1966.
12. Царапкин Л. С. В кн.: Защита и восстановление при лучевых повреждениях. М., Наука, стр. 142, 1966.
13. Шишеникова Л. К. В кн.: Защита и восстановление при лучевых повреждениях. М., Наука, стр. 152, 1966.