

Г. Г. БАТИКЯН, С. Н. МАРТИРОСЯН, С. Г. МИКАЕЛЯН, З. М. АНАНОВА

ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РЕПАРАЦИЮ ПЕРВИЧНЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ХРОМОСОМ CREPIS CAPILLARIS

В статье освещаются вопросы радиационного последействия и снятия повреждающего эффекта радиации воздействием протекторами из ряда аминокислот.

Изучение влияния ионизирующего излучения на организм способствует разрешению ряда вопросов, в частности выявлению механизма образования обменных хромосомных перестроек (транслокаций, инверсий и т. д.). Знание этого механизма необходимо для построения общей теории хромосомных мутаций и решения других радиобиологических проблем.

Из многочисленных исследований следует, что ряд разнообразных по своей природе факторов способен уменьшить повреждения облученной клетки. Интересны работы [2, 4, 5], в которых радиационное поражение было ослаблено воздействием метаболически активных веществ, которые, вероятно, появились в организмах в процессе эволюции для защиты наследственных структур от спонтанного мутирования (цистеин, глюкоза, аланин, АТФ и др.).

Исследованию защитных свойств аминокислот (исключая цистеин) посвящено небольшое количество работ [1, 3, 10—12].

Настоящее исследование преследовало цель продолжить изучение природы радиационного последействия при воздействии различными концентрациями протекторов α , β -аланина и аргинина, а также выяснить длительность сохранения вызванных радиацией потенциальных нарушений структуры хромосом.

Покоящиеся семена растений являются сухими биосистемами, в которых метаболическая активность сведена до минимума. Вследствие этого они являются чрезвычайно удобными для изучения вопросов, связанных с образованием аберраций хромосом.

Материал и методика. Воздушно-сухие семена *C. capillaris* подвергались облучению в дозе 4000 г при мощности дозы 500 г в мин. Через 1 и 12 час. после облучения в течение 24 час. они замачивались в растворе α -аланина и аргинина. Другая часть облученных семян замачивалась в растворе β -аланина в течение 1 и 3 час.*

Обработанные протектором семена промывались в проточной воде в течение 30 мин. и проращивались в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при 22°C. За

* Предварительно серией опытов была установлена наиболее эффективная экспозиция обработки семян в растворах α -, β -аланина и аргинина.

два часа до фиксации их помещали в 0,05% раствор колхицина. Принимая во внимание тот факт, что клетки зародыша в сухих семенах обладают одинаковой радиочувствительностью [7], во всех проводившихся экспериментах фиксация материала проводилась в один срок, через 30 час. с начала проращивания семян (длина корешков 1,2-1,4 мм).

Приростки фиксировались в ацеталкогольной смеси (1:3) и готовились давленные ацетокарминовые препараты.

Показателем повреждающего действия радиации служили хромосомные перестройки типа транслокаций, инверсий, делеций и микрофрагментов, выявленные в метафазах первого митотического деления клеток корневой меристемы (рис. 1-8).

Результаты и обсуждение. Результаты эксперимента показали, что использованные нами протекторы являются эффективными. Они снижают повреждающее действие радиации на ядерные структуры клеток *S. capillaris*.

Все они модифицируют эффект радиации, проявляющийся в изменении спектра aberrаций хромосом. Это нетрудно выявить при сравнении данных соответствующих вариантов опыта, приведенных в таблицах.

Исследования показали, что с увеличением концентрации протектора количество перестроек хромосом намного снижается. Так, при воздействии на семена через 1 час после облучения $1 \cdot 10^{-3}$ М раствором α -аланина уровень мутирования составляет 16,4%, а при более высокой концентрации протектора— $1 \cdot 10^{-2}$ М—14,8% (табл. 1).

Таблица 1

Мутирование клеток и спектр мутаций хромосом *S. capillaris*
при действии α -аланином, %

Вариант	Число изучаемых метафаз	Измененные метафазы	Хромосомные делеции	Хромосомные транслокации	Кольца		Инверсии	Микрофрагменты
					центромерные	ацентрические		
1 ч а с.								
4000 г	1236	23,38±1,2	2,50	6,71	0,4	0,8	0,8	3,55
$1 \cdot 10^{-3}$ М	1207	16,40±0,9	1,20	5,49	0,51	0,68	—	1,89
$1 \cdot 10^{-2}$ М	1236	14,80±1,0	2,40	4,72	0,57	0,63	0,41	1,57
12 ч а с.								
$1 \cdot 10^{-3}$ М	1154	13,90±1,0	0,72	5,05	0,18	0,54	—	1,62
$1 \cdot 10^{-2}$ М	1130	13,00±1,1	1,18	4,36	0,47	0,11	0,23	1,88

Данные проведенных параллельно исследований по анализу перестроек хромосом в метафазах показали, что то же самое можно сказать в отношении других использованных нами протекторов, β -аланина и аргинина. Судя по всему, увеличение концентрации протектора ведет за собой уменьшение количества перестроек хромосом (табл. 2, 3).

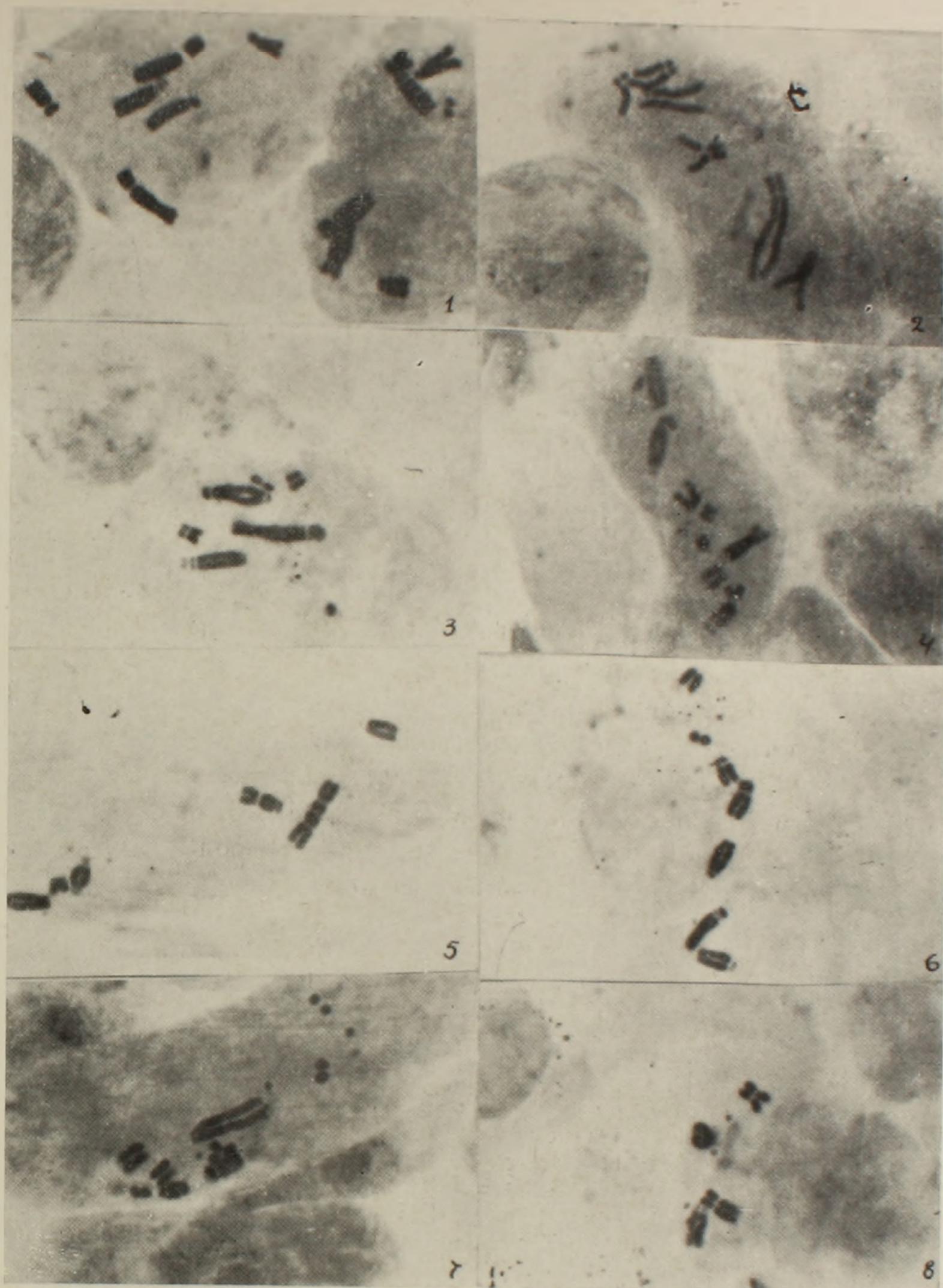


Рис. 1. Нормальный карิโอтип *Speris capillaris* и простая хромосомная концевая делеция в длинном плече хромосомы С.

Рис. 2. Хромосомная симметричная транслокация между гомологами А (в длинных плечах).

Рис. 3. Хромосомная асимметричная транслокация между А и Д (в длинных плечах) и симметричная транслокация между А и С (в длинных плечах).

Рис. 4. Хромосомная асимметричная транслокация между гомологами С (в длинных плечах), простая хромосомная концевая делеция в длинном плече А хромосомы и в коротком плече С хромосомы.

Рис. 5. Хромосомные асимметричные транслокации между гомологами Д (в длинных плечах), А и С (в коротком и длинном плечах) и простая хромосомная концевая делеция в длинном плече хромосомы А.

Рис. 6. Хромосомные бесцентромерные кольца (кольцевая делеция в коротком плече А хромосомы) и асимметричная транслокация между Д и С хромосомами (в коротких плечах).

Рис. 7. Микрофрагменты разной формы и величины.

Рис. 8. Пара центромерных колец, вдетых друг в друга.

Таблица 2

 Мутирование клеток и спектр мутаций хромосом *S. capillaris*
 при действии β-аланином, ‰

Вариант	Число изучаемых метафаз	Измененные метафазы	Делеции	Транслокации	Кольца		Инверсии	Микрофрагменты
					центромерные	ацентрические		
1 ч а с.								
4000 г	1021	23,4±0,54	0,97	20,11	0,68	0,49	0,29	2,24
1·10 ⁻² М	1032	15,9±1,14	2,32	11,34	0,39	0,19	0,48	1,16
1·10 ⁻³ М	1008	17,1±1,19	1,98	12,49	0,69	0,09	0,2	1,58
3 ч а с.								
1·10 ⁻² М	1028	14,7±1,105	2,04	10,88	0,29	0,09	0,19	1,16
1·10 ⁻³ М	1018	16,2±1,153	1,67	9,03	0,98	0,39	0,49	3,63

Таблица 3

 Мутирование клеток и спектр мутаций хромосом *S. capillaris*
 при действии аргинином, ‰

Вариант	Число изучаемых метафаз	Измененные метафазы	Делеции	Транслокации	Кольца		Инверсии	Микрофрагменты
					центромерные	ацентрические		
1 ч а с.								
4000 г	1236	23,38—1,2	2,5	6,71	0,4	0,8	0,8	3,55
2·10 ⁻⁵ М	1136	19,55—1,1	1,4	6,69	0,88	0,17	0,17	2,37
2·10 ⁻⁴ М	1170	18,46—0,8	1,19	5,89	0,17	0,25	0,34	0,94
2·10 ⁻³ М	1187	17,91—1,1	1,34	5,58	0,59	0,5	0,75	1,84
12 ч а с.								
2·10 ⁻⁵ М	1196	17,09—1,1	0,84	5,87	0,33	1,15	0,17	1,68
2·10 ⁻⁴ М	1243	15,67—1,0	1,22	5,58	—	0,69	0,34	1,91
2·10 ⁻³ М	1146	15,04—1,0	1,02	5,12	0,34	0,68	0,51	1,53

Для решения вопроса о длительности сохранения в метаболизирующих клетках потенциальных нарушений структуры хромосом был проведен эксперимент, в котором эффективность протекторов испытывалась спустя 12 час. после облучения семян.

Результаты пострадиационного влияния протекторов, примененных в более поздние сроки после облучения семян, указывают на достаточно длительное сохранение вызванных радиацией потенциальных нарушений. Об этом убедительно говорят полученные данные, указывающие на

четкий модифицирующий эффект данного протектора в отношении уменьшения aberrаций хромосомного типа (табл. 1—3).

Как видно из таблиц, максимальный модифицирующий эффект протекторов, проявляющийся в уменьшении уровня мутирования клеток, наблюдается при обработке семян через 12 час. после облучения.

Так, например, если в контрольном варианте (4000 г) хромосомные нарушения составляют 23,38%, то при воздействии самой высокой дозой α -аланина процент хромосомных aberrаций понижается почти в два раза, а $2 \cdot 10^{-3}$ М раствор аргинина снижает уровень мутирования до 15,04% (табл. 1—3).

Следовательно, при воздействии протекторами на семена в более поздние сроки после облучения совместное действие защитных веществ и восстановительных механизмов, связанных с перекомбинированием и воссоединением хромосом, приводит к более реальному ослаблению R-лучей, что выражается в снижении числа клеток с хромосомными aberrациями. Можно полагать, что восстановительные процессы осуществляются на протяжении всего предсинтетического периода, а также позднее с помощью ряда ферментов системы восстановления, синтез которых с облучением протекает более интенсивно.

Введение протекторов в клетку как бы создает в ней дополнительный источник энергии, который вместе с молекулами системы восстановления используется в репарационных процессах.

Нами выявлен также спектр хромосомных нарушений (табл. 1, 2). Все aberrации, наблюдаемые в диплоидных клетках, относятся к перестройкам хромосомного типа, что понятно, ибо в отношении семян скерды радиационно-цитогенетическим и радиоавтографическим методами показано, что практически все их клетки в зародышевой меристеме находятся в предсинтетической стадии G_1 [6, 8, 9].

Таким образом, облучение клеток в G_1 приводит к появлению повреждений в структуре хромосом, что может в дальнейшем отразиться на их морфологии. Выявлено, что аминокислоты α -, β -аланин и аргинин, использованные как протекторы, снимают повреждающее действие радиации на ядерные структуры клеток меристемы *S. scaberrima*. При этом во взятом нами диапазоне концентраций аминокислот более эффективные результаты получены в вариантах с наиболее высокими дозами.

Определенную роль играет также время действия протектора. При воздействии протектором на семена через 3 час. и 12 час. после облучения уровень мутирования клеток намного ниже, чем через 1 час после облучения.

Հ. Գ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, Ս. Ն. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ, Ս. Գ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Զ. Մ. ԱՆԱՆՈՎԱ

ՔՐԻՄԻԱԿԱՆ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ CREPIS CAPILLARIS-Ի ՔՐՈՄՈՍՈՄՆԵՐԻ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՄԱՆ ԱՌԱՋՆԱՅԻՆ ՎՆԱՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՌԵՊԱՐԱՑԻԱՅԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել α - և β -ալանին և արգինին՝ պրոտեկտորների տարբեր խտությունների դեպքում ճառագայթահարման ազդման բնույթը, ինչպես նաև բացահայտել ճառագայթահարման հետևանքով առաջացած քրոմոսոմների կառուցվածքի պոտենցիալ խախտումների պահպանման տևողությունը *Crepis capillaris*-ի մոտ:

Պարզվել է, որ վերցված ամինաթթուները (α - և β -ալանինը և արգինինը), որոնք օգտագործվել են որպես պրոտեկտորներ, վերացնում են *Crepis capillaris*-ի մերիստեմային բջիջների կորիզի կառուցվածքային վնասվածքներ առաջացնող ճառագայթահարման վնասակար ազդեցությունը: Ընդ որում, վերցրած կոնցենտրացիաների դեպքում առավել արդյունավետ տվյալներ են ստացվում բարձր խտությունների տարբերակներում: Որոշակի դեր է խաղում նաև ճառագայթահարումից հետո պրոտեկտորի մուտք գործման ժամկետը: Այսպես, օրինակ, ճառագայթահարումից 3 և 12 ժամ հետո ակնհայտորեն իջնում է քրոմոսոմային մուտացիաների հաճախականությունը՝ համեմատած ճառագայթահարումից 1 ժամ հետո պրոտեկտորով ազդելու համեմատությամբ: Դա հավանաբար բացատրվում է նրանով, որ ճառագայթահարված սերմերի վրա, պրոտեկտորների ազդեցության դեպքում, բջջում առաջանում է էներգիայի լրացուցիչ աղբյուր, որը վերականգնող սխեմեմի հետ մեկտեղ օգտագործվում է ռեսպարացիայի երևույթներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Брегадзе И. Ф. Радиобиология, 5, 1, 1965.
2. Вольф Ш. Восстановление клеток от повреждений. М., 228, 1963.
3. Ганасси Е. Э., Эйдус Л. Х., Ариффулина Р. А. Радиобиология, 3, 440, 1963.
4. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. Радиобиология, 4, 6, 1964.
5. Дубинин Н. П., Суйкова Л. А., Щербаков В. К. ДАН СССР, 166, 15, 1966.
6. Немцева Л. С. Радиобиология, 5, 126, 1965.
7. Протопопова Е. М., Кублик Л. Н. Радиобиология, 4, 878, 1964.
8. Протопопова Е. М., Шевченко В. В., Генералова М. В. Генетика, 6, 1967.
9. Сидоров Б. Н., Соколов Н. Н., Андреев В. С. Генетика, 1, 112, 1965.
10. Шапиро Н. И., Протопопова Е. М. Радиобиология, 2, 485, 1962.
11. Bacq L. M. Acta radiol, 41, 47, 1954.
12. Stapleton G. E., Billen D., Hollender A. J. Bacteriol. 63, 805, 1952.