

Р. Е. ПАНОЯН

МОДИФИЦИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ХИМИЧЕСКИХ ЗАЩИТНЫХ ВЕЩЕСТВ НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС У ЯЧМЕНЯ

Изучался модифицирующий эффект некоторых радиопротекторов на мутационный процесс. Наблюдения показали, что протекторы могут влиять на метаболические процессы и тем самым модифицировать конечный эффект поражения до и после их реализации.

В литературе имеется много данных о модифицирующем действии химических защитных веществ при радиационном повреждении организмов. Однако большинство этих работ посвящено противолучевому действию протекторов при их применении непосредственно перед облучением [1, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 15]. Эксперименты, в которых протекторы применялись после облучения или изучался их модифицирующий эффект в ряде поколений облученного организма, малочисленны [2—4, 7, 9, 11, 13], и приведенные в них данные часто противоречивы. Между тем исследования модифицирующего действия протекторов как на клеточном (по критерию перестроек хромосом), так и на организменном уровне (по выживаемости и по выходу мутаций) очень важны, так как в поколениях организмов могут накапливаться наследственные изменения.

Целью нашего исследования было изучение модифицирующего действия радиопротекторов на повреждающий эффект облучения как на клеточном (цитогенетические опыты), так и на организменном уровне (лабораторные и полевые опыты).

В предыдущей нашей работе [7] были определены оптимальные концентрации протекторов по токсичности и по защитному эффекту при разных дозах облучения. Исследуемые концентрации протекторов не оказали цитогенетического действия.

В настоящей работе приводятся результаты цитогенетических исследований. В нашу задачу входило изучение действия радиопротекторов, гамма-облучения и модифицирующего эффекта протекторов при учете aberrаций хромосом в первой анафазе митотического цикла клеток меристемы корешков ячменя.

Материал и методика. Воздушно-сухие семена ячменя (сорта МОС-121) обрабатывали свежеприготовленными растворами радиопротекторов: АЭТ (S, 2-амино-этиллизоглиуруния), тиомочевина, цистеина и цистеаминна в течение 2 час., затем ополаскивали проточной водой и облучали в воде в дозе 10 кр. В контрольном варианте семена замачивали в воде в течение 2 часов и облучали в воде в дозе 10 кр. После обработки се-

мена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге при температуре 24° в термостате. Фиксацию корешков производили на 42, 45 и 48 час.

Результаты и обсуждение. В результатах, представленных на таблицах, приведены средние величины по вариантам. Определяли частоту нормальных и мутантных анафаз, а также спектр возникших перестроек хромосом. В каждом варианте было просмотрено 20—25 корешков с учетом 600—800 анафаз. В анафазах и ранних телофазах учитывали число парных и одиночных фрагментов, а также парных и одиночных дицентриков (мостов). При облучении иногда в одной и той же клетке возникало множество перестроек хромосом, которые, перемещиваясь, прикрывали друг друга, затрудняя тем самым определение конкретных типов перестроек. Такие клетки записывались в отдельной графе под названием «другие».

Как видно из табл. 1, при облучении в дозе 10 кр (контроль) у клеток корешков семян ячменя наблюдалась довольно большая частота перестроек хромосом в виде одиночных и парных мостов, одиночных и парных фрагментов. При обработке семян 0,01 М раствором АЭТ за 2 час. до облучения уровень мутирования снижался от 38,03 до 24,1%, эффект защиты составлял 36,5%. Высокий защитный эффект наблюдался и при 10-кратном снижении концентрации АЭТ (0,001 М)—33,34%, достоверность $t = 5,33$.

Довольно высокий уровень защиты проявился и при применении цистеина при концентрации которого 0,01 М снижалась частота мутантных анафаз с 38,03 (контроль) до 22,33%, а при концентрации 0,001 М—до 27,0%. Достоверность защиты была соответственно—6,41 и 4,28.

Сравнительно низкий, но достоверный защитный эффект был получен при применении тиомочевины и цистеина в концентрациях 0,05 М. При более слабой концентрации (0,005 М) тиомочевины защитный эффект не проявился.

Число перестроек хромосом на 100 aberrантных анафаз в вариантах с перестройками варьировало незначительно, тогда как число перестроек на 100 просмотренных анафаз (поврежденных и неповрежденных) уменьшилось значительно. Это означает, что изменение радиационного эффекта в сторону защиты обеспечивалось за счет восстановления клеток с меньшим числом перестроек.

Спектр перестроек хромосом (табл. 2) как в облученном (контрольном), так и в вариантах с применением протекторов находился почти на одном уровне, с колебаниями 1—4%.

Наблюдаемое незначительное увеличение хромосомных мостов, вероятно, свидетельствовало о наличии процесса частичного соединения разорванных концов хромосомных фрагментов. Эта картина более заметна у хроматидных перестроек, где протекторы АЭТ и цистеин в обеих концентрациях увеличивали процент соединения перестроек. Аналогично этому, протекторы снижали число парных и одиночных фрагментов. При соединении центрических фрагментов образовывались

Таблица 1
Частота аномальных клеток и перестроек хромосом при обработке семян ячменя растворами химических протекторов перед гамма-облучением в дозе 10 кр

Варианты опыта	Число			Процент анафаз с перестройками	Достоверность разницы, t	% защиты	Число перестроек			
	препаратов	изученных анафаз	анафаз с перестройками				общее	на 100 изученных анафаз	на 100 анафаз с перестройками	
Вода + 10 кр (контроль)	25	750	287	38,03 ± 1,77	—	—	426	56,80	148,43	
АЭТ 0,01 М + 10 кр	25	750	181	24,13 ± 1,56	5,89	36,50	253	33,73	139,70	
АЭТ 0,001 М + 10 кр	25	750	190	25,33 ± 1,58	5,33	33,34	271	36,13	142,63	
ТМВ 0,05 М + 10 кр	25	750	218	29,07 ± 1,65	3,42	25,50	308	41,07	136,70	
ТМВ 0,005 М + 10 кр	25	750	271	36,13 ± 1,75	0,78	4,92	396	52,80	146,1	
ЦТИ 0,05 М + 10 кр	20	600	175	29,17 ± 1,95	3,37	23,24	235	39,17	134,22	
ЦТА 0,01 М + 10 кр	20	600	134	22,33 ± 1,70	6,41	41,24	212	35,33	158,28	
ЦТА 0,001 М + 10 кр	20	600	168	27,00 ± 1,81	4,28	28,95	250	41,67	148,81	

Примечание: АЭТ — S, 2-аминоэтиллизотинурия.

ТМВ — тиомочевина,

ЦТИ — цистеин,

ЦТА — цистеамин.

Таблица 2
Спектр перестроек хромосом, возникших при обработке семян ячменя растворами химических протекторов перед гамма-облучением в дозе 10 кр

Варианты опыта	Типы перестроек									
	X X = X —		C C = C —		=		—		другие	
	число	%	число	%	число	%	число	%	число	%
Вода + 10 кр (контроль)	101	23,71	33	7,71	203	47,65	87	20,24	2	0,47
АЭТ 0,01 М + 10 кр	64	25,30	32	12,65	106	41,90	46	18,18	5	1,98
АЭТ 0,001 М + 10 кр	66	24,34	34	12,55	119	43,91	51	18,82	1	0,36
ТМВ 0,05 М + 10 кр	74	24,02	27	8,76	144	46,75	60	19,48	3	0,97
ТМВ 0,005 М + 10 кр	92	23,23	32	8,08	182	45,96	84	21,21	6	1,52
ЦТИ 0,05 М + 10 кр	57	24,25	23	9,78	108	45,96	45	19,15	2	0,85
ЦТА 0,01 М + 10 кр	59	27,83	26	12,26	82	38,68	41	19,36	4	1,88
ЦТА 0,001 М + 10 кр	63	25,20	27	10,80	96	38,40	52	20,80	12	4,80

мости, вместе с которыми учитывались и ацентрические фрагменты. Поэтому число ацентрических фрагментов как отдельно учитываемых повреждений уменьшалось. А если центрические фрагменты не соединяются, то в анафазах они уходят в шапки и не обнаруживаются, а ацентрические фрагменты остаются на экваториальной зоне (центре) клетки и учитываются. Следовательно, полученное увеличение числа мостов под влиянием протекторов, по-видимому, явилось следствием их способности соединять разрывы хромосом. Наряду с изменениями в спектрах хромосомных и хроматидных перестроек наблюдались изменения в парных и одиночных фрагментах. Однако эти изменения тоже незначительны. Отсюда можно заключить, что модифици-

рующее действие протекторов осуществлялось в основном до реализации радиационного поражения.

Поскольку число хромосомных перестроек в 2—3 раза больше хроматидных, следовательно, основная масса клеток в зародышах семян в момент облучения находилась в стадии G_1 .

Достаточно значительный выход хроматидных перестроек явился результатом того, что семена перед облучением в течение 2 час. обрабатывались водными растворами протекторов, а облучение проводилось в воде. За этот период часть клеток успела перейти в стадии S и G_2 . Вследствие этого повысилось и число одиночных ацентриков по сравнению с парными.

Исходя из полученных результатов и анализа литературных данных, можно предположить, что защита организма от радиации с помощью протекторов происходит в результате снижения повреждающего эффекта облучения в основном до реализации поражения. Однако наблюдаемые изменения в спектре перестроек хромосом, хотя и небольшие, свидетельствуют о том, что протекторы могут влиять на метаболические процессы и тем самым модифицировать конечный эффект поражения не только до их реализации, но и после.

Можно предположить, что при применении радиопротекторов имеющиеся разрывы могут соединяться как в старом порядке генов в хромосомах, так и в новом. Последнее может привести к повышению частоты мутаций в последующих поколениях облученного организма.

Лаборатория индуцированного
мутагенеза

Поступило 26.XII 1973 г.

Ռ. Ե. ՓԱՆՈՅԱՆ

ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՊԱՇՏՊԱՆԻՉ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՄՈՒԴԻՅԻԿԱՑՆՈՂ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՈՒՄՈՎ ԻՆԴՈՒԿՑՎԱԾ ՄՈՒՏԱՑԻՈՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ
ԳԱՐՈՒ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է քիմիական պաշտպանիչ նյութերի՝ ԱէՏ (S, 2-ամինա-1-թիլիզոտիոուրոնիախ), տիոմիզանյութի, ցիստեինի և ցիստեամինի մոդիֆիկացնող ազդեցությունը ճառագայթահարման ժամանակ զարու սերմերի սաղմնային արմատածայրերի անող բջիջներում:

Ցիտոզենետիկական ուսումնասիրություններից (անաֆագային մեթոդով) պարզվել է, որ 10 կո ճառագայթահարման դոզան առաջացնում է բրոմոսոմային վնասվածքներ բջիջների 38%-ի մոտ:

Գարու սերմերի նախնական մշակումը նշված պաշտպանիչ նյութերի ջրային լուծույթներով, մինչև ճառագայթահարումը, նվազեցնում է վնասված բջիջների ելքը: Միաժամանակ նկատվում է զգալի փոփոխություն ըստ բրոմոսոմների խոստորումների ելքի և սպեկտրի: Դա թույլ է տալիս եզրակացնելու, որ

բիմիական պաշտպանիչ նյութերի մոդիֆիկացնող ազդեցությունը հիմնականում կատարվում է մինչև պոտենցիալ վնասվածքների իրացումը:

Չնայած դրան, դատելով քրոմոսոմների խոտորումների ելքի և սպեկտրի մասնակի փոփոխություններից կարելի է ենթադրել, որ բիմիական պաշտպանիչ նյութերը մասնակցում են նաև քրոմոսոմների կտրված հատվածների վերամիավորմանը, հետևաբար նաև միավորմանը: Հետևաբար, հիշյալ բիմիական նյութերը պաշտպանելով օրգանիզմի բջիջներին ճառագայթահարման վրնասող ազդեցությունից, մասամբ փոխում են նաև նրա ազդեցության ուղղությունը և կարող են առաջացնել ժառանգական փոփոխությունների ճառագայթահարված օրգանիզմի սերունդների մոտ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Александр П. В сб.: Радиационные эффекты в физике, химии и биологии, 292, М., 1965.
2. Бак З. Химическая защита от ионизирующей радиации. М., 1968
3. Дэвидсон Д. В сб. Радиационная защита и восстановление. М., 1964.
4. Конгер А. Д. В сб. Радиационная защита и восстановление М., 1964.
5. Лучник Н. В., Царапкин Л. С., Цитология, 1, 1959.
6. Лучник Н. В., Тимофеева-Ресовская Е. А. Тр. Ин-та биологии Уральского филиала АН СССР, 12, 1960.
7. Паноян Р. Е. В сб. Мутагенез растений. Ереван, 1971
8. Холлендер А. В сб. Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. М., 1963.
9. Холлендер А. и Степльтон Дж. В сб. Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм, М., 1958.
10. Шапиро Н. И., Протопопова Е. М. Радиобиология. 4, 2, 1964.
11. Barron E. S., Dickman S., Muntz J. A., Singer T. The journal of general physiology, 32, 537, 1949.
12. Catcheside D. G. Physics in Medicine and Biology, 4, 2, 1949.
13. Nelson A., Hertzberg O. and Henricsson J. Acta Radiol, new series, 1, 471, 1963.
14. Patt H. M. Science, 110, 213, 1949.
15. Wolff S. Amer. Naturalist, 94, 874, 1960.