КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.3+575.1+547.857.4+581.4

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОДИФИКАЦИИ
КОФЕИНОМ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ
У *CREPIS CAPILLARIS*

С. Е. ЕГИАЗАРЯН

К кофеину в последнее время привлекается большое внимание, особенно с тех пор, как было установлено, что он является ингибитором темновой репарации в бактериальных системах [1].

Модифицирующее действие кофеина показано в отношении эукариотов, подвергнутых действию радиации, как на цитогенетическом, так и молекулярном уровнях. На растительных клетках и на клетках млекопитающих показано, что кофеин увеличивает выход структурных перестроек в стадиях G_2 и S и в большинстве случаев не меняет этот показатель в стадии G_1 .

Исследовалось также действие кофеина на выживаемость клеток, причем одни авторы наблюдали модифицирующий эффект кофеина [2, 3], другие не обнаружили его [4, 5].

Установлено, что кофеин подавляет репарацию разрывов ДНК [6], хотя имеются данные, опровергающие этот вывод [7]. Обнаружено также, что кофеин ликвидирует радиационную задержку деления клеток [8, 9].

Использование химической модификации радиационных повреждений позволило выявить значительную роль репарационных процессов в радиочувствительности различных стадий клеточного цикла [10, 11].

В настоящей работе с помощью кофеина исследовалась роль репарации в конечном повреждении хромосом клеток *Crepis capillaris*, облученных малыми дозами рентгеновских лучей (200, 400 p) на разных стадиях клеточного цикла.

Материал и методика. Корешки *Crepis capillaris* после 32-часового проращивания облучались рентгеновскими лучами (200 и 400 p) на аппарате РУМ-11, при мощности дозы 185 p/мин, с использованием Cu-0,5 фильтра. Сразу после облучения проростки помещались в раствор кофеина на 2 часа. Использовали раствор кофеин-бензоат натрия, который применяли в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ M (в расчете на кофеин). После 10-минутной промывки проростки погружались в колхицин (0,01%) и на протяжении всего опыта росли в нем. Корешки длиной 1,5—1,8 мм фиксировались в смеси Карнуа (3 части спирта и 1 часть 45%-ой уксусной кислоты) через каждые 2 часа (6 фиксаций). Аберрации хромосом анализировались на давленных ацетокарми-

новых препаратах. Параллельно ставилась контрольная партия опытов, в которых проростки либо только облучались в обеих дозах, либо выдерживались в кофенне, не подвергаясь облучению.

Результаты и обсуждение. По нашим данным, модификация кофеином мутагенного эффекта облучения (как 200, так и 400 р) выражалась в изменении спектра aberrаций и общем увеличении числа клеток с aberrациями (табл.), которое с возрастанием срока фиксации уменьшалось: при 2-часовой фиксации—51,4, при 12-часовой—33,7% (200 р), и соответственно 76,2 и 62,2 (400 р).

В отсутствие модификации наблюдается уменьшение выхода перестроек от G_2 к G_1 -стадии. Наибольший процент измененных клеток при облучении 200 р отмечается при 2-часовой фиксации, по мере увеличения срока фиксации происходит снижение этого показателя, а с 6-го часа—выравнивание его (табл.). В спектре нарушений при этом преобладают хроматидные aberrации, изолюкусные разрывы всех типов и транслокации. Одиночные хроматидные разрывы отмечаются в первые часы фиксации, процент их достоверно уменьшается в последние часы (табл.). Самый высокий уровень общего повреждения наблюдается при 2- и 4-часовой фиксации.

При облучении в дозе 400 р наблюдается такая же зависимость радиочувствительности от стадий цикла. Модифицирующий эффект кофеина при этом выражается в усилении повреждения.

Использование кофеина ($2 \cdot 10^{-3}$ М) приводит к увеличению процента перестроек, происходящему преимущественно за счет изолюкусных разрывов, хроматидных делеций, транслокаций. Гораздо реже встречаются перестройки типа интерстициальных делеций, колец, микрофрагментов. Кофеин в сочетании с облучением (200 р) приводит к возрастанию процента перестроек во всех сроках фиксации. Так, при 2-часовой фиксации процент изолюкусных разрывов с соединениями и транслокаций составил 22,7, к 12-му часу—19,6; изолюкусных разрывов без соединений (NUpd) соответственно—3,64, 1,49; хроматидных и интерстициальных делеций—23,5 и 8,75.

Кофеин, используемый после облучения 400 р, приводит к еще более высокому проценту aberrаций, особенно с 4-го часа фиксации. Так, процент изолюкусных разрывов и транслокаций к этому времени составил 39,8, к 12-му часу—37,8; изолюкусных разрывов без соединения фрагментов (NUpd)—4,07 и 2,62 соответственно.

Кофеин в данной концентрации ($2 \cdot 10^{-3}$ М) практически не мутабилен, однако вызывает задержку деления. Рассматривая спектр мутаций, с 8-го часа фиксации (S-стадия) мы наблюдали появление, с некоторым опозданием по сравнению с контролем (табл.), определенного количества хромосомных перестроек (дигентрики, кольца, симметричные обмены), что свидетельствует о задержке митоза и о том, что кофеин влияет на продолжительность цикла, растягивая его.

Литературные данные о структурных повреждениях хромосом довольно многочисленны. Обработка кофеином как облученных, так и

Перестройки хромосом при модификации кофеином радиационного поражения

Таблица

Варианты опыта	Сроки фиксации	Количество просмотров-реинных метафаз	Количество клеток с абберациями	Количество аббераций	Количество аббераций на 100 клеток	Количество перестроек на 100 клеток			
						изолюкусные разрывы и транслокации	NUpd	хроматидные и интерстициальные делеции	хромосомные абберации
Облучение 200 p	2	432	154	175	40,5±2,3	15,50±1,7	2,31±0,7	21,53±1,9	1,36±0,5 2,85±0,7 2,71±0,8
	4	510	152	165	32,4±2,0	10,98±1,4	1,38±0,5	19,02±1,7	
	6	531	125	147	27,8±1,9	13,44±1,5	1,88±0,6	12,14±1,4	
	8	585	126	141	24,1±1,7	12,95±1,4	1,71±0,5	7,53±1,09	
	10	528	93	127	25,1±1,8	12,31±1,4	2,84±0,7	5,5±0,9	
	12	442	52	78	17,6±1,8	9,28±1,3	1,13±0,5	4,07±0,9	
Облучение 200 p + кофеин	2	412	170	212	51,4±2,5	22,72±2,06	3,64±0,9	23,5±2,08	1,65±0,6 2,32±0,7 3,09±0,8
	4	465	213	238	51,2±2,3	24,32±1,9	1,72±0,6	28,04±1,9	
	6	528	186	216	40,9±2,1	23,71±1,8	2,08±0,02	17,63±1,7	
	8	485	179	230	47,5±2,3	23,31±1,9	0,62±0,4	18,6±1,8	
	10	517	173	224	43,4±2,4	24,37±1,9	0,97±0,4	13,34±1,5	
	12	469	131	158	33,7±2,2	19,62±1,9	1,49±0,4	8,75±1,4	
Облучение 400 p	2	327	194	269	80,5±2,1	12,93±1,8	15,3±1,9	51,7±2,8	2,7±0,6 5,2±0,9 4,35±0,7
	4	442	309	388	85,9±1,6	35,51±2,3	4,07±0,9	43,16±2,4	
	6	604	273	318	52,7±20,3	15,66±1,5	2,16±0,6	22,9±1,7	
	8	699	273	291	41,6±1,8	22,28±1,6	2,02±0,5	13,27±1,3	
	10	612	205	213	34,8±1,9	16,39±1,5	3,3±0,7	8,53±1,13	
	12	828	191	215	25,9±1,5	12,57±1,1	1,81±0,5	5,07±2,4	
Облучение 400 p + кофеин	2	615	440	469	76,2±1,7	31,65±1,8	3,91±0,8	39,6±1,9	0,17±0,2 1,4±0,5 3,3±0,9
	4	442	357	402	91,0±1,9	39,8±2,3	4,07±0,9	45,08±2,4	
	6	451	385	390	86,6±1,6	44,6±2,3	4,4±0,9	33,96±2,2	
	8	581	422	527	90,8±1,2	50,96±2,08	0,34±0,2	32,9±1,9	
	10	572	390	470	82,1±1,6	50,04±2,1	0,7±0,4	25,95±1,8	
	12	420	225	261	62,2±2,4	37,8±2,3	2,62±0,8	16,2±1,8	

необлученных клеток приводит к более позднему появлению митотических клеток, что свидетельствует об удлинении стадии G_2 ; при этом он ликвидирует радиационную задержку деления [8, 9].

Приведенные данные показывают, что эффект модификации максимален в стадии синтеза ДНК, поскольку, согласно результатам, полученным методом радиоавтографии [1, 2], S-стадия соответствует срокам фиксации 4—8 часов. С увеличением этого срока происходит снижение эффекта модификации, что указывает на неэффективность кофеина в стадии G_1 . Об этом же свидетельствует низкий выход хромосомных повреждений при воздействии кофеином.

Приведенные результаты согласуются с литературными данными и демонстрируют выравнивание радиочувствительности в пределах стадии G_2 —S на фоне модификации кофеином радиационного повреждения. Это подчеркивает, что различия в радиационном повреждении, наблюдаемые в отсутствие модификации, в значительной мере обусловлены не различием в величине первичных повреждений хромосом, а разным вкладом репарации в конечный результат действия радиации на ядерный аппарат клетки.

Автор выражает благодарность Ганасси Е. Э. и Авакяну В. А. за помощь в подготовке данной работы.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 22.XII 1977 г.

ԿՈՖԵԻՆՈՎ ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՎԱԾ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԻՆ ՎԼԱՍՎԱԾՔԻ
ԲԶՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
CREPIS CAPILLARIS-Ի ՄՈՏ

Ս. Ե. ԵՂԻԱԶԱՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է 200 և 400 ռ դոզայով ճառագայթահարումից հետո կոֆեինով մշակված *C. capillaris*-ի արմատածայրերի մոտ քրոմոսոմային խաթարումների հաճախականությունը:

Պարզվել է, որ ճառագայթային վնասվածքի ուժեղացումը, ինչպես 200, այնպես էլ 400 ռ դոզաներով ճառագայթահարման դեպքում, հատկապես ուժեղ է արտահայտվում 2 և 4 ժամյա ֆիքսացիաների ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Жестяников В. Д. Восстановление и радиорезистентность клетки. Л., 1970.
2. Малиновский О. В., Михайлова А. Г., Сигалева Н. Я., Шейкина Р. А. Цитология, 10, 1304, 1973.
3. Семенова Е. Г., Жестяников В. Д. Радиационная цитология—74, ЛИЯФ, 1975.
4. Arlett C. F. Inter. J. Rad. Biol., 17, 515, 1970.
5. Елиссенко Н. Н., Максимова М. В. Цитология и генетика, 9, 3, 237, 1975.
6. Жестяников В. Д. Радиобиология, Ииф. бюлл., 16, 3, 1974.
7. Шредер Э., Магдон Э. Тез. докл. I радиобиол. конф., соч. стран, ЧССР, 395, 1974.
8. Scafe J. F. Inter. J. Rad. Biol., 19, 191, 195, 1975.
9. Kltmra H. J. Rad. res., 15, 2, 75, 1974.
10. Заичкина С. И., Аптикаева Г. Ф., Ганасси Е. Э. Радиобиология, 13, 5, 754, 1973.
11. Саугабаева К. М., Эйдус Л. Х., Ганасси Е. Э. Радиобиология—76, ЛИЯФ, 1977.
12. Митрофанов Ю. А., Восканян А. З. Цитология и генетика, 5, 422—425, 1972.