

Член-корреспондент АН СССР Н. И. НУЖДИН, Н. С. САМОХВАЛОВА,
Э. М. ШЕКШЕЕВ

ХАРАКТЕР ВОЗНИКНОВЕНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ГАММА-ЛУЧАМИ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЕМЯН

Одним из характерных проявлений лучевого поражения клетки являются хромосомные aberrации. Теоретическое представление о возможном механизме их возникновения различно. В настоящее время все большее признание получает гипотеза потенциальных поражений, которые в пост-радиационный период при соответствующих условиях способны реализо-ваться в истинные повреждения.

Первичные радиобиологические поражения биосубстрата могут быть вызваны либо непосредственным актом ионизации жизненноважных биомо-лекул, либо каким-то другим механизмом перевода абсорбированной энер-гии. Изучение корреляции между величиной сигнала свободных радикалов, возникающих в клетке при облучении, и степенью поражения является од-ним из путей в решении проблемы первичных механизмов биологического действия ионизирующего излучения. Данные, полученные рядом авторов (1-4), показывают, что свободные радикалы играют значительную роль в цепи событий, следующих после поглощения лучистой энергии. Метод электронного парамагнитного резонанса дает возможность сопоставить пер-вичные радиобиологические реакции с конечным биолучевым эффектом.

Таблица 1

Тип покоя	Срок хранения зарод. после выдел. из облуч. семян, сутки	Зародыши облученных семян			Зародыши необлученных семян		
		амплитуда сигнала э.п.р. *		аберрантные клетки, %	амплитуда сигнала э.п.р. *		аберрантные клетки, %
		сухие зарод.	наклю-нувш. зарод.		сухие зарод.	наклю-нувш. зарод.	
Органи-ческий	0	21,4	15,9	10,81±1,0	8,3	11,3	1,5±0,6
	1	19,3	—	16,62±1,3	9,2	—	1,77±0,5
	2	13,0	—	18,27±1,1	8,4	—	2,07±0,5
	10	13,1	7,5	26,37±1,2	8,6	11,8	2,52±0,7
Вынужден-ный	0	17,1	3,7	27,43±1,3	8,3	11,9	1,18±0,3
	1	17,5	—	25,64±1,1	5,1	—	2,34±0,4
	2	9,5	—	27,06±1,3	5,9	—	1,26±0,4
	10	6,1	4,2	29,49±1,4	7,2	6,0	2,72±0,7

* Здесь и в табл. 2—амплитуда сигнала э.п.р.—в относительных единицах (средние данные).

Опыты, проведенные ранее с семенами ячменя одной влажности, но на-ходящимися в разном физиологическом состоянии (в органическом и вы-нужденном покое), обнаружили у них в пострадиационный период различ-ное проявление радиобиологических эффектов (5-7). В связи с этим пред-ставляло интерес сопоставить изменения в частоте возникновения хромо-сомных aberrаций при облучении двух указанных категорий семян с кине-тикой накопления и гибели свободных радикалов.

Семена ячменя сорта Одесский 17, находящиеся в состоянии органического и вынужденного покоя, были облучены γ -лучами Cs^{137} (15 кр, 620 р/мин). Влажность обеих групп семян составляла 7—8%. Температура в течение опыта была стационарной: 20—22°. До опыта семена хранили в лабораторных условиях при той же температуре.

В одной серии опытов (табл. 1) у семян сразу после их облучения были отделены зародыши, часть которых (варианты 0) использовали при опре-

делении сигнала э.п.р. и одновременном получении материала для цитологического анализа. У остальной части зародышей определение сигналов э.п.р. и цитологический анализ проводили на материале, хранившемся на воздухе разные сроки после облучения. В другой серии опытов (табл. 2) облучение зародышей производилось в разные

сроки после их выделения из семян и хранения на воздухе. В этом случае определение сигнала э.п.р. и постановка на проращивание во всех вариантах опыта проводились сразу после облучения материала.

Изучался выход клеток с хромосомными aberrациями (ацентрическими фрагментами и дицентрическими мостами) в поздних анафазах и ранних телофазах меристемы корешков. Запись спектров э.п.р. велась на стандартном радиоспектрометре.

Результаты опыта, представленные в табл. 1 и 2, показывают, что величина хромосомного повреждения в клетках меристемы первичных корешков облученных зародышей обратно пропорциональна интенсивности сигналов э.п.р. у этих зародышей. По-видимому, фиксируемое количество свободных радикалов представляет собой лишь только ту часть из них, которая к моменту снятия спектров э.п.р. не успела распасться и, следовательно, остается потенциальным источником дальнейшего возникновения хромосомных aberrаций. Обнаруженное же при помощи цитологического анализа количество aberrантных клеток является результатом как истинного хромосомного повреждения, нанесенного радиацией, так и уже успевших проявиться потенциальных повреждений, источником которых являются индуцированные радиацией долгоживущие радикалы.

Работами многих исследователей (⁸⁻¹²) показано, что распад свободных радикалов происходит гораздо быстрее в присутствии кислорода, аноксия же способствует продлению сроков их существования. Наличие аноксии, а также низкой подвижности возбужденных и ионизированных атомов и молекул и неспаренных электронов в клетках зародышей семян, находящихся в органическом покое, приводит к меньшей вероятности их столкновения как между собой, так и с невозбужденными атомами и молекулами. Все это влияет на характер свободнорадикальных реакций и сказывается как на величине сигналов э.п.р., так и на степени биологического повреждения. Нарушение целостности семенных оболочек облегчает проникновение в клетки зародыша семян атмосферного кислорода, что способствует взаимодействию свободных радикалов с молекулами кислорода с образованием высокореактивных перекисных радикалов. Это приводит к возрастанию частоты индуцированных хромосомных aberrаций.

Табл. 1 свидетельствует о том, что хранение на воздухе в течение первых суток зародышей, выделенных из семян, облученных в органическом покое, приводит к резкому снижению величины сигналов э.п.р. и возраста-

Таблица 2

Тип покоя	Срок облуч. зародышей после их выдел. из семян, сутки	Амплитуда ситг. э. п. р.	Аберрантные клетки, %
Органический	0	23,0	11,61 $\pm$ 2,8
	1	17,7	19,97 $\pm$ 1,3
	2	17,2	24,31 $\pm$ 1,4
	10	12,0	25,42 $\pm$ 1,6
Вынужденный	0	15,3	23,28 $\pm$ 0,9
	1	11,3	28,28 $\pm$ 1,4
	2	12,1	28,46 $\pm$ 1,7
	10	13,8	27,09 $\pm$ 1,5

нию частоты аберрантных клеток. Увеличение частоты хромосомных аберраций на 2—3 сутки после искусственного выведения семян ячменя из органического покоя было обнаружено также в исследованиях Н. И. Нуждина с сотрудниками⁽⁶⁾. Однако влияние органического покоя на величину сигналов э.п.р. и количество индуцированных хромосомных мутаций не снимается сразу после искусственного выведения семян из указанного физиологического состояния, а сохраняется в течение длительного времени. Как показывает табл. 1, четкие различия в выходе свободных радикалов и хромосомных аберраций у зародышей, облученных в состоянии органического и вынужденного покоя, сохраняются даже при намачивании и проращивании последних до стадии наклевывания. Последнее согласуется с наблюдениями других авторов⁽¹³⁾.

Снижение интенсивности сигналов э.п.р. при хранении зародышей, облученных в вынужденном покое (табл. 1 и 2), связано, очевидно, со взаимодействием индуцированных радикалов с уже имеющимся в клетках этих зародышей кислородом. В связи с этим заслуживают внимания результаты, полученные при облучении зародышей, хранившихся различное время после их выделения из семян (табл. 2). Лишь у зародышей, облученных сразу после выделения из семян, находившихся в состоянии органического покоя (вариант 0), выход радикалов и количество хромосомных аберраций соответствуют данным, приведенным в табл. 1 (органический покой, вариант 0). В том и другом случае зародыши находились в состоянии органического покоя. При облучении же зародышей, хранившихся разные сроки на воздухе, выход радикалов падает, а процент хромосомных аберраций возрастает, что проявляется при облучении зародышей как в вынужденном, так и в органическом покое, но до определения сигналов э.п.р. или проращивания хранившихся на воздухе 1—10 суток (табл. 1).

Заслуживает также внимания то, что у необлученных зародышей, находящихся в состоянии органического и вынужденного покоя, величина сигналов, как и частота хромосомных аберраций, находятся примерно на близких уровнях (табл. 1). Это свидетельствует о том, что роль и значение физиологического состояния клетки четко проявляются лишь в индуцированном мутагенезе.

Полученные данные показывают, что выход сигналов э.п.р. и частота хромосомных аберраций определенным образом взаимосвязаны с физиологическим состоянием семян, в которых они образуются: органический покой семян задерживает распад свободных радикалов и уменьшает индуцированное биологическое повреждение. Большая часть исходных изменений, вызванных γ -лучами, появляется, очевидно, в виде потенциальных повреждений. Для их реализации в истинные хромосомные мутации требуются, кроме определенного промежутка времени, еще и особые условия внутри клетки.

Авторы выражают благодарность Л. П. Каюшину за советы при выполнении настоящего исследования и обеспечение возможности его проведения.

Институт биофизики
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке Моск. обл.

Поступило
30 XII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ K. G. Zimmer, L. Ehrenberg, A. Ehrenberg, *Strahlentherapie*, 103, 3 (1957).
- ² A. Ehrenberg, L. Ehrenberg, *Arkiv Fysik*, 14, 133 (1958).
- ³ R. A. Nilan, C. F. Konzak et al., *Effects of Ionizing Radiations on Seeds*, Vienna, 1961, p. 139.
- ⁴ Л. И. Лебедева, В. К. Ермолаева, *Генетика*, 5, № 5, 69 (1969).
- ⁵ Н. И. Нуждин, Р. Л. Дозорцева, *Журн. общ. биол.*, 23, 12 (1962).
- ⁶ Н. И. Нуждин, Р. Л. Дозорцева, Н. С. Самохвалова, *Сборн. Действие понижающих излучений на растительный и животный организм*, «Наука», 1965, стр. 4.
- ⁷ Те же, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, № 4, 577 (1964).
- ⁸ A. D. Conger, *J. Cell. and Comp. Physiol., Suppl.* 1, 58, 27 (1961).
- ⁹ E. L. Pawers, *Ibid.*, 58, 13 (1961).
- ¹⁰ B. V. Conger, R. A. Nilan et al., *Rad. Bot.*, 6, 129 (1966).
- ¹¹ Idem, *Science*, 162, 1142 (1968).
- ¹² Idem, *Rad. Bot.*, 8, 1, 31 (1968).
- ¹³ В. П. Стригуцкий, Ю. К. Никольский, *Биофизика*, 8, в. 3, 520 (1968).