АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ ФИЛИАЛ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

На правах рукописи

Л. С. ЦАРАПКИН

ВЛИЯНИЕ ЦИСТЕИНА НА ЛУЧЕВЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

СВЕРДЛОВСК
1962

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ ФИЛИАЛ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

На правах рукописи

Л. С. ЦАРАПКИН

ВЛИЯНИЕ ЦИСТЕИНА НА ЛУЧЕВЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ХРОМОСОМ У РАСТЕНИЙ

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

СВЕРДЛОВСК
1962

Работа выполнена в лаборатории биофизики Института биологии Уральского филиала АН СССР.
Научный руководитель — заведующий лабораторией биофизики Института биологии Уральского филиала АН СССР **Н. В. Тимофеев-Ресовский.**

Просим Вас и сотрудников Вашего учреждения, интересующихся темой диссертации, принять участие в заседании Ученого совета, посвященном защите, или прислать свои отзывы.

О дне и времени защиты за 10 дней будет объявлено в газете „Уральский рабочий" или „Вечерний Свердловск"

Предварительно защита намечена на

конец января 1963 г.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии Уральского филиала АН СССР (г. Свердловск, ул. 8 марта, 202.)

Ваши отзывы и пожелания направляйте по адресу: г. Свердловск, ул. 8 марта, 202, ученому секретарю Объединенного Ученого совета Г. С. Хреновой.

Дата отправки реферата

1. XII. 62 г.

Ученый секретарь Объединенного Ученого совета при Институте биологии УФАН СССР
кандидат наук Г. С. ХРЕНОВА

I. ВВЕДЕНИЕ

За последние годы одной из наиболее тщательно изучаемых проблем радиобиологии стала химическая защита от вредного действия ионизирующих излучений. Наряду с чисто прикладным и практическим значением подобные исследования представляют большой интерес для более глубокого анализа и познания биологического действия ионизирующих излучений. Среди большого числа известных противолучевых средств цистеин является одним из наиболее изученных. Всестороннее исследование защитного действия цистеина на разных уровнях организации подопытных объектов показало, что его эффект осуществляется на клеточном уровне, на очень ранней ступени лучевого поражения. Хотя известно, что цистеин оказывает защитное действие на клеточном уровне, уменьшая число клеток с хромосомными аберрациями, тем не менее до сих пор в литературе не встречается данных о всестороннем исследовании этого эффекта. Все гипотезы, пытающиеся объяснить противолучевое действие цистеина и его производных, исходят из того положения, что эти вещества неэффективны при применении их после облучения. Однако имеются отдельные указания, что в определенных условиях сульфгидрильные соединения могут оказать защитный эффект и при применении после облучения, в том числе уменьшают и число клеток с хромосомными аберрациями (Лучник, Царапкин, 1959).

В связи с вышеизложенным представлялось важным всесторонне исследовать влияние цистеина на лучевые повреждения хромосом при применении его как до, так и после облучения. Задачей данной работы является изучение влияния разных факторов на эффект цистеина при его применении до и после облучения, а также сравнение его противолучевого действия на проростках и сухих семенах. Описываемые опыты проведены за период с 1950 по 1961 гг. в лаборатории

биофизики Института биологии Уральского филиала АН СССР.

Основное содержание работы докладывалось на заседании Уральского отделения Московского общества испытателей природы (Свердловск, февраль 1959 г.), на расширенных совещаниях лаборатории биофизики УФАН СССР с участием сотрудников других институтов АН СССР, на VIII сессии Научного Комитета по действию атомной радиации при ООН (Женева 1960 г.) и на ряде других научных заседаний.

Представляемая диссертация состоит из следующих разделов:

I. Введение (стр. 1—18).

II. Материал и методика исследований (стр. 19—27).

III. Результаты опытов (стр. 28—88). Этот раздел состоит из четырех глав: 1 — Действие цистеина на семена и проростки, 2 — Применение цистеина до облучения на проростках, 3 — Применение цистеина после облучения на сухих семенах и 4 — Опыты с другими веществами.

IV. Обсуждение результатов (стр. 89—118). В этом разделе подводятся важнейшие итоги опытов, обсуждаются обратимость первичных повреждений хромосом и возможная природа потенциальных повреждений хромосом, механизм восстановления потенциальных повреждений хромосом, защитное действие цистеина и действие других применявшихся в опытах веществ.

V. Выводы (стр. 119—122).

VI. Литература (78 работ русских авторов и 194 иностранных; стр. 123—153). Работа включает в себя, кроме текста, 41 таблицу и 37 рисунков.

II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты ставились на проростках и семенах гороха сорта Капитал. Во всех опытах применялся нейтральный раствор цистеина концентрацией 0,01 М/л. Облучение производилось, за исключением специальных опытов, гамма-лучами Co-60 проростков дозами 600—800 р, семян — 10000—15000 р. На проростках воздействие цистеина длилось 2 часа до облучения. Воздействие после облучения производилось следующим образом. Облученные сухие семена после облучения хранились в течение 2—3 дней, затем намачивались в воде или в 0,01 М нейтральном растворе цистеина (в течение первых 4—6 часов, остальное время в воде). Проростки после про-

ращивания в темном термостате при 24°С фиксировались в смеси Карнуа. Кончики корешков окрашивались уксуснокислым лакмоидом или уксуснокислым кармином. В корневой меристеме на временных давленых препаратах подсчитывался процент делящихся клеток, в анафазах анализировались хромосомные аберрации. В некоторых опытах для получения кривых время-эффект производилось несколько фиксаций в течение первого после облучения цикла деления клеток. О наступлении второго митоза судили по появлению микроядер в делящихся клетках. Процент первично поврежденных клеток определялся расчетным путем. Для статистического анализа применялись стандартные методы.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

1. Действие цистеина на семена и проростки

В опытах испытывались солянокислый цистеин, нейтральный цистеин. Семена намачивались в течение 24 часов в растворах концентрации от 10^{-5} до 10^{-1} М/л. В растворах концентрации от 10^{-5} до 10^{-3} М/л прорастание и развитие семян идет нормально, концентрация 10^{-2} М/л тормозит прорастание, при концентрации 10^{-1} М/л семена не прорастают. На проростках и семенах для совместного воздействия с гамма-лучами наиболее подходящей концентрацией оказался 0,01 М нейтральный раствор цистеина.

2. Применение цистеина до облучения на проростках

Первые опыты по совместному воздействию цистеина (0,005 М/л) и гамма-лучей показали, что защита проявляется на митотической активности, заметно уменьшается процент ненормальных анафаз, причем уменьшение происходит преимущественно за счет фрагментов, действие цистеина выражено слабее на числе мостиков.

Зависимость от концентрации растворов цистеина. Испытывались концентрации растворов нейтрального цистеина от $10^{-3,5}$ до 10^{-1} М/л. Проростки взвешивались через 10 дней после облучения, измерялась длина стеблей, корней, определялся процент клеток с хромосомными аберрациями. Защитный эффект цистеина увеличивается с повышением концентрации и связан с ней примерно логарифмической зависимостью. Защитное действие цистеина прояв-

ляется на разных типах структурных ненормальностей хромосом по-разному. Число фрагментов уменьшается в большей степени, чем число мостиков (табл. 1). Среднее число мостиков на клетку с мостиками и среднее число фрагментов на

Таблица 1.

Влияние цистеина, примененного до облучения проростков гороха, на разные типы ненормальностей митоза

	Контроль		Цистеин		t	P
	общ. число	на 100 клеток	общ. число	на 100 клеток		
Исследовано анафаз	405	—	500	—	—	—
Ненормальных клеток	339	83,7±1,83	261	52,2±2,35	13,1	$<10^{-4}$
Клеток с мостиками	259	64,0±2,38	218	43,6±2,34	6,11	$<10^{-4}$
Клеток с фрагментами	167	41,2±2,44	79	15,8±1,72	8,50	$<10^{-4}$
Число мостиков	412	101,7±5,00	361	72,2±3,79	6,30	$<10^{-4}$
Число фрагментов	167	41,2±3,19	79	15,8±1,78	6,94	$<10^{-4}$
Число мостиков на клетку с мостиками	1,6		1,6			
Число фрагментов на клетку с фрагментами	1,9		1,9			
Отношение числа мостиков к числу фрагментов	1.31		2,41			

клетку с фрагментами под влиянием цистеина не изменяются. Следовательно, защитный эффект осуществляется в основном за счет уменьшения числа поврежденных клеток.

Зависимость защитного эффекта от продолжительности воздействия цистеина. Для

полного проявления противолучевого действия оказалось достаточным двухчасового намачивания, намачивание в течение одного часа дает меньший эффект.

Значение присутствия цистеина в тканях во время облучения. При облучении проростков цистеин оказывает эффект только в том случае, если он применяется непосредственно до облучения; для осуществления защиты цистеин должен присутствовать в ткани во время облучения, так как отмывание проростков от цистеина непосредственно перед облучением снижает эффект. Применение его непосредственно после облучения не оказывает защитного действия.

Влияние цистеина на ход кривых время-эффект. Кончики корешков фиксировались через определенные интервалы времени, начиная от 1 часа до 144 часов после облучения. Клетки, делящиеся впервые, наблюдаются в сроки от 12 до 48 часов после облучения. Анализ хода кривых время-эффект показывает, что к 12—15 часам наблюдается пик процента клеток с хромосомными аберрациями. Однако к более поздним срокам фиксации, к концу первого после облучения митоза проценты ненормальных анафаз, клеток с фрагментами и число фрагментов резко падают. За этот интервал времени степень повреждения пораженных клеток (среднее число фрагментов на клетку с фрагментами) мало изменяется. Поскольку эти клетки делятся впервые после облучения, то этот спад эффекта во время первого после облучения цикла деления трудно объяснить элиминацией повреждений или разной радиочувствительностью, а также и разной степенью первичного повреждения. Уменьшение эффекта во времени лучше всего объясняется, если предположить, что под действием облучения возникают обратимые первичные повреждения хромосом, способные спонтанно восстанавливаться (Лучник, Царапкин 1959). При этом степень восстановления тем больше, чем больше времени проходит между моментом облучения и делением клетки. Спонтанный процесс восстановления потенциальных повреждений имеет в основном клеточный характер, протекает по принципу «все или ничего». Клетка либо восстанавливает все повреждения, либо они все реализуются, так как степень повреждения пораженных клеток во времени не изменяется. Применение цистеина

не изменяет степень повреждения пораженных клеток; следовательно, его защитный эффект проявляется в основном за счет уменьшения числа поврежденных клеток. Кривые для процента ненормальных анафаз имеют экспоненциальный характер, выпрямляются в полулогарифмическом масштабе. Статистическая обработка данных показывает, что цистеин слабо влияет на скорость восстановления, но примерно в 2,5 раза уменьшает число первичных повреждений (коэффициенты регрессии — контроль: —0,0142±0, 0006; цистеин: —0,0182±0,0036; сравнение коэффициентов между собой: t=1,13; P=0,215).

Влияние дозы облучения. Исследовалась зависимость защитного действия цистеина от дозы облучения (от 400 до 2000 р) при помощи анализа кривых время-эффект. Спонтанное клеточное восстановление наблюдается до 1200 р, при более высоких дозах облучения (1600 р и выше) кривые время-эффект расположены параллельно оси абсцисс. Цистеин заметно ускоряет процесс восстановления при дозах 400 и 800 р, что видно из большего по сравнению с контролем наклона кривых (табл. 2). В диапазоне больших доз (1600 и 2000 р), где спонтанное клеточное восстановление отсутствует, противолучевое действие цистеина осуществляется за счет снижения эффективной дозы, так как кривые подопытных вариантов расположены параллельно контрольным, только на более низком уровне процента пораженных клеток.

Эффект цистеина на разных стадиях намачивания и прорастания семян. При облучении семян на разных стадиях набухания защитный эффект цистеина проявляется в одинаковой степени. Однако при облучении семян на разных стадиях прорастания оказалось, что в интервале времени от конца намачивания до 12—16 часов защитное действие цистеина в 2—3 раза больше, чем в более поздние сроки облучения. Это явление объясняется разной скоростью восстановления потенциальных повреждений на разных стадиях прорастания семени (коэффициенты регрессии при облучении через 12 часов после конца намачивания — контроль: —0,1786±0,0309; цистеин: —0,3647±0,0234; t=14,01; P=0,005; при облучении через 24 часа соответственно — контроль: —0,0849±0,0332; цистеин: —0,1963±0,0706; t=3,09; P=0,09).

Таблица 2.

Результаты статистического анализа опытов по влиянию цистеина на скорость восстановления лучевых повреждений хромосом у проростков гороха, облученных разными дозами гамма-лучей

Доза облучен. в р	Среда намачивания	Коэффициент регрессии	t	n	P
400	Вода	$-0,1344 \pm 0,0122$	3,91	2	0,06
	Цистеин	$-0,6102 \pm 0,1212$			
800	Вода	$-0,1060 \pm 0,0032$	8,87	2	0,012
	Цистеин	$-0,3556 \pm 0,0315$			
1200	Вода	$-0,1307 \pm 0,0346$	1,09	2	0, 8
	Цистеин	$-0,1865 \pm 0,0379$			
1600	Вода	$-0,0436 \pm 0,1560$	1,85	2	0,20
	Цистеин	$-0,1613 \pm 0,0201$			
2000	Вода	$-0,0950 \pm 0,0481$	1,22	2	0,34
	Цистеин	$-0,0150 \pm 0,0445$			

3. Воздействие цистеина после облучения сухих семян

Влияние намачивания сухих облученных семян в растворе цистеина на частоту хромосомных аберраций. Намачивание сухих облученных семян в 0,01 М растворе цистеина значительно уменьшает число клеток с хромосомными аберрациями. Эффект цистеина сильнее сказывается на числе фрагментов, чем на числе мостиков (табл. 3). При этом среднее число мостиков на клетку с мостиками и среднее число фрагментов на клетку с фрагментами

под воздействием цистеина не изменяется, что указывает на то, что защитное действие осуществляется за счет уменьшения числа поврежденных клеток, в то время как степень повреждения пораженных клеток в среднем остается такой же, как в контроле. Относительное число мостиков, являющихся результатом рекомбинации мест разлома, при воздействии цистеина повышается, что говорит об увеличении вероятности воссоединения. Однако абсолютное число мостиков при этом не возрастает, а уменьшается почти вдвое. Следовательно, при воздействии цистеина должно было бы уменьшаться общее число первичных разломов. Цистеин же применялся после облучения; поэтому следует считать, что разлом хромосом происходит не во время облучения, а позже. Таким образом, непосредственным результатом облучения является образование потенциальных повреждений хромосом, которые позже реализуются в видимые хромосомные аберрации.

Зависимость от концентрации цистеина. Цистеин оказывает эффект в очень широком интервале концентраций от 10^{-2} до 10^{-6} М/л. Даже для наинизшей концентрации получен статистически достоверный эффект ($\chi^2=10{,}27$; $P=0{,}0016$). Эффект примерно зависит от логарифма концентрации.

Определение критического периода применения цистеина. Цистеин оказывает защитный эффект тогда, когда он применяется с самого начала намачивания семян. Для вызывания полного эффекта достаточно относительно кратковременного воздействия (четыре часа). При применении после облучения набухших семян цистеин не проявил защитного эффекта.

Влияние цистеина на ход кривых время-эффект. Фиксация производилась через определенные интервалы времени до 147 часов после конца намачивания. Первый после облучения цикл деления клеток протекает за интервал времени от 21 до 45 часов. Во время первого митоза наблюдается резкое уменьшение числа анафаз с хромосомными аберрациями от ранних к поздним фиксациям от 100 до 20%. При этом степень повреждения пораженных клеток остается почти без изменений. Под воздействием цистеина уменьшение числа поврежденных клеток значительно ускоряется. Однако цистеин не влияет на степень повреждения пораженных клеток. Это явление объясняется восстановлением потенциальных по-

Таблица 3

Влияние цистеина, примененного после облучения сухих семян гороха, на разные типы ненормальностей митоза

	Контроль		Цистеин		t	P
	общ. число	на 100 клеток	общ. число	на 100 клеток		
Исследовано анафаз	1450		1400	—	—	
Ненормальных клеток	611	41,5±1,29	234	16,7±1,00	15,2	$<10^{-4}$
Клеток с мостиками	338	23,3±1,11	155	11,1±0,84	8,8	$<10^{-4}$
Клеток с фрагментами	398	24,5±1,13	117	8,4±0,74	11,8	$<10^{-4}$
Число мостиков	576	39,8±1,65	263	18,8±1,16	10,4	$<10^{-4}$
Число фрагментов	893	61,6±2,06	259	18,5±1,15	18,2	$<10^{-4}$
Число мостиков на клетку с мостиками	1,70		1,70			
Число фрагментов на клетку с фрагментами	2,24		2,21			
Отношение числа мостиков к числу фрагментов	0,64		1,02			

вреждений хромосом (Лучник, Царапкин 1959), которое под воздействием цистеина значительно ускоряется (коэффициенты регрессии—контроль: —0,0210±0,0011; цистеин: —0,0402±0,0053; их сравнение дает: t=3,56; P=0,024).

Зависимость защитного эффекта от дозы облучения. Для разных доз облучения (от 5000 до 40000 р) были получены кривые время-эффект. Спонтанное клеточное восстановление наблюдается при облучении дозами до 20000 р. В этом же интервале доз проявляется защитный эффект цистеина, выражающийся в ускорении процесса спон-

Таблица 4.

Результаты статистического анализа опытов по влиянию цистеина на скорость восстановления лучевых повреждений хромосом у проростков из сухих семян гороха, облученных разными дозами гамма-лучей (воздействие цистеина после облучения)

Доза облучения в р	Среда намачивания	Коэффициент регрессии	t	n	P
5000	Вода	0,0319±0,0024	2,87	8	0,02
	Цистеин	—0,1284±0,0334			
10000	Вода	—0,0813±0,0139	2,06	6	0,05-0,06
	Цистеин	-0,1451±0,0276			
15000	Вода	—0,1248±0,0032	3,66	4	0,024
	Цистеин	—0,2431±0,0327			
20000	Вода	+0,0084±0,0126	0,85	7	0,45
	Цистеин	+0,0332±0,0263			
30000	Вода	+0,0329±0,0165	1,53	6	0,18
	Цистеин	+0,1317±0,0627			
40000	Вода	+0,0765±0,0127	0,53	5	0,60
	Цистеин	+0,0527±0,0312			

танного восстановления (табл. 4). При более высоких дозах гамма-лучей отсутствует как спонтанное восстановление, так и эффект цистеина.

Влияние влажности семян. Облучались покоящиеся семена разной влажности (от 4 до 30% содержания воды), были получены кривые время-эффект. Спонтанное клеточное восстановление потенциальных повреждений наблюдается при влажности семян от 10 до 25%, в этом же интервале проявляется эффект цистеина. При меньшем содержании воды в

семенах спонтанное восстановление отсутствует, и не проявляется защитное действие цистеина.

4. Опыты с другими веществами

Намачивание облученных сухих семян в растворах различных химических веществ. Аминокислоты цистин, аланин, серин и такие разнообразные вещества, как хлористый натрий, уксуснокислый натрий и этиловый спирт, количественно оказывают сходный с цистеином защитный эффект (Царапкин 1959). Аденозинтрифосфат, 2, 4-динитрофенол уменьшили число ненормальных анафаз в большей степени, чем цистеин, в то время как глюкоза по сравнению с контролем усилила эффект поражения.

Применение некоторых веществ до и после облучения проростков. Аденозинтрифосфат, в отличие от цистеина, оказывает защитный эффект при применении до и после облучения проростков. Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) увеличивает в одинаковой мере как при применении до, так и после облучения число клеток с хромосомными аберрациями. При кратковременном воздействии (2 часа) ЭДТА избирательно увеличивает число фрагментов за счет торможения независимого восстановления отдельных локальных повреждений хромосом. При более длительном воздействии (12—24 часа) ЭДТА тормозит клеточное восстановление.

IV. ОБСУЖДЕНИЕ

Обратимость первичных повреждений хромосом

В настоящей работе приводятся экспериментальные данные, говорящие о том, что часть первичных повреждений хромосом возникает в виде потенциальных повреждений, сохраняющих в течение некоторого времени способность к восстановлению. Обратимость первичных повреждений наблюдалась при изучении влияния химических веществ на число хромосомных аберраций при применении их после облучения, при анализе кривых время-эффект и зависимости эффекта от влажности облучающихся покоящихся семян. Тот факт, что вещества, оказавшие защитное действие при применении после облучения, снижают не только число фрагментов, но и число мостиков, являющихся результатом рекомбинации, говорит о том, что это явление объясняется только восстановлением обратимых первичных повреждений хромосом. Сход-

ственный путь для репарации лучевых повреждений хромосом. Существует еще и независимое восстановление отдельных локальных повреждений хромосом. Оно было обнаружено в результате анализа распределения фрагментов по клеткам, анализа кривых время-эффект и в опытах с применением ЭДТА. Для проявления клеточного восстановления существуют определенные верхние пороговые дозы (1200 р для проростков и 20000 р для семян). В обоих механизмах восстановления участвуют одни и те же процессы, ответственные за это явление, по-видимому, радиочувствительные общеклеточные системы, поражение которых при более высоких дозах облучения препятствует клеточному восстановлению потенциальных повреждений хромосом.

О защитном действии цистеина

Защитное действие цистеина при применении после облучения осуществляется в основном за счет уменьшения числа пораженных клеток, в то время как степень повреждения пораженных клеток остается без изменения. Анализ кривых время-эффект показывает, что цистеин осуществляет защиту путем ускорения клеточного восстановления первичных повреждений хромосом. Из экспериментальных данных по воздействию разными дозами гамма-лучей и по облучению покоящихся семян с разным содержанием воды видно, что цистеин уменьшает число клеток с хромосомными аберрациями только в тех вариантах, где наблюдается спонтанное клеточное восстановление (в интервале доз до 20000 р и при влажности от 10 до 25%). Непосредственная связь между клеточным восстановлением и защитным эффектом цистеина объясняется тем, что действие цистеина осуществляется не за счет взаимодействия с локальными повреждениями хромосом, а за счет изменения реакции клетки в целом.

Защитное действие цистеина на проростках при применении до облучения осуществляется за счет двух механизмов: уменьшения эффективной дозы облучения и ускорения процесса спонтанного восстановления. Анализ кривых время-эффект для разных доз облучения показывает, что в интервале доз до 1200 р наблюдается спонтанное клеточное восстановление, которое в значительной степени ускоряется под воздействием цистеина. При дозах облучения выше 1200 р спонтанное клеточное восстановление отсутствует, однако цистеин проявляет защитный эффект, который можно объяснить только снижением эффективной дозы.

О действии других веществ

Действие цистеина при его применении после облучения на сухих семенах является неспецифическим эффектом, так как разнообразные вещества (аминокислоты: цистин, аланин, серин и такие вещества, как хлористый натрий, уксуснокислый натрий, этиловый спирт) оказали в эквимолярных концентрациях количественно такой же эффект, как цистеин. Вещества, связанные с энергетическим обменом или влияющие на него, снизили число клеток с хромосомными аберрациями в большей степени, чем цистеин (аденозинтриофосфат, 2,4—динитрофенол), либо увеличили число ненормальных клеток по сравнению с контролем (глюкоза). Это дает возможность предположить, что в процессах восстановления большую роль играет энергетический обмен клетки.

Заключение

Предположение о том, что под воздействием облучения возникают потенциальные повреждения, на судьбу которых можно экспериментально воздействовать разнообразными дополнительными вмешательствами, открывает возможность анализировать влияние модифицирующих факторов, оставаясь на твердой почве точных биофизических теорий. Полученные результаты представляют интерес в решении вопросов современной биофизики клетки. Одно то, что реализация потенциальных повреждений происходит в момент редупликации хромосом, дает основание надеяться, что радиационно-генетические опыты и их анализ могут помочь выяснению вопросов, касающихся механизмов ауторепродукции элементарных внутриклеточных структур.

V. ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. При воздействии до облучения на проростки цистеин снижает число клеток с хромосомными аберрациями. Для осуществления противолучевого эффекта на проростках необходимо присутствие цистеина в ткани во время облучения: при применении его после облучения противолучевое действие отсутствует. Цистеин снижает в большей степени число фрагментов, чем число мостиков. Цистеин не влияет на степень повреждения пораженных клеток.

2. Из анализа кривых время-эффект следует, что во время первого после облучения цикла деления клеток проис-

ходит резкое уменьшение числа клеток с хромосомными аберрациями. Этот эффект объясняется восстановлением потенциальных повреждений хромосом, которое осуществляется с тем большей вероятностью, чем больше времени проходит между облучением клетки и фиксацией. Восстановление потенциальных повреждений хромосом происходит в основном за счет уменьшения числа поврежденных клеток. Спонтанный процесс клеточного восстановления обратимых первичных повреждений имеет место в интервале низких доз (до 1200 р), при более высоких дозах (1600 р и выше) оно не наблюдается. Защитный эффект цистеина осуществляется за счет ускорения спонтанного клеточного восстановления при дозах до 1200 р и за счет снижения эффективной дозы при дозах 1600 р и выше.

3. Намачивание облученных сухих семян в растворе цистеина значительно снижает число анафаз с хромосомными аберрациями. Сильнее всего воздействие сказывается на числе фрагментов, в меньшей степени на числе мостиков. Защитный эффект осуществляется за счет уменьшения числа поврежденных клеток. Степень повреждения пораженных клеток остается без изменения. Для осуществления защитного действия необходимо, чтобы семена находились с самого начала намачивания в растворе цистеина.

4. Исследование кривых время-эффект для сухих семян показало, что, как на проростках, во время первого после облучения цикла деления клеток, наблюдается резкое уменьшение числа клеток с хромосомными аберрациями. При этом степень повреждения пораженных клеток не изменяется. Эффект цистеина осуществляется за счет ускорения этого процесса. Спонтанное клеточное восстановление и защитное действие цистеина проявляются в интервале доз до 20000 р. При облучении семян с разным содержанием воды защитный эффект цистеина проявляется только в тех вариантах (10—25% содержания воды), в которых имеет место спонтанное клеточное восстановление.

5. Намачивание облученных семян в эквимолярных растворах других веществ: цистина, аланина, серина, хлористого натрия, уксуснокислого натрия, этилового спирта оказывает сходный с цистеином защитный эффект. Аденозинтрифосфат, 2,4-динитрофенол снижают число клеток с хромосомными аберрациями в большей степени, чем цистеин; глюкоза значительно повышает число клеток с хромосомными мутациями.

На проростках аденозинтрифосфат и ЭДТА оказывают одинаковый эффект при применении до и после облучения, указывая этим самым на то, что они не изменяют число первичных повреждений хромосом, а влияют лишь на их дальнейшую судьбу, ускоряя (аденозинтрифосфат) или замедляя (ЭДТА) спонтанный процесс восстановления.

6. Полученные экспериментальные данные объясняются следующим образом. Под воздействием облучения часть первичных повреждений хромосом возникает в виде потенциальных повреждений, способных либо восстановиться, либо реализоваться в истинные разломы. Их реализация происходит во время ауторепродукции хромосом. Вероятность восстановления для потенциальных повреждений тем больше, чем больше времени проходит между облучением и редупликацией хромосом. Процесс восстановления обратимых первичных повреждений хромосом может проявиться в виде независимого восстановления отдельных локальных повреждений хромосом или в виде клеточного восстановления. Хромосомные мутации, в том числе и потенциальные повреждения, являются результатом локальных повреждений хромосом, восстановление же имеет более общий характер и зависит от степени повреждения всего протопласта.

7. Защитное действие цистеина осуществляется за счет двух механизмов: уменьшения числа первичных повреждений и ускорения спонтанного клеточного восстановления потенциальных повреждений хромосом. При применении до облучения на проростках в снижении эффекта облучения участвуют оба механизма, при применении после облучения на сухих семенах — только второй.

8. Вывод о том, что под действием облучения возникают обратимые первичные повреждения хромосом, на вероятность реализации которых оказывают влияние разнообразные воздействия, открывает возможность для анализа влияния модифицирующих факторов и добавочных терапевтических воздействий при лучевых поражениях, исходя из точных биофизических теорий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние цистеина на цитологические повреждения, вызванные гамма-лучами у гороха (совместно с Н. В. Лучником). Цитология I, 71: 1959.

2. Об обратимости цитогенетических лучевых повреждений (совместно с Н. В. Лучником), ДАН СССР **124**, 213:1959.

3. Восстановление лучевых повреждений хромосом при различных химических воздействиях. ДАН СССР **128**, 190:1959.

4. Влияние защитных веществ при применении их после облучения на частоту хромосомных аберраций. Тезисы. Симпозиум по проблеме «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений». Московское общество исп. прир., стр. 49. Москва 1960.

5. Обратимость цитогенетических повреждений, вызванных радиацией, (совместно с Н. В. Лучником, Н. А. Изможеровым, Н. А. Порядковой и Н. В. Тимофеевым-Ресовским). Акад. Наук СССР, Москва 1960.

6. О механизмах противолучевого действия веществ и восстановления радиационно-цитологических повреждений. Тезисы. Межвузовская конференция по экспериментальной генетике I, стр. 180, ЛГУ. Ленинград 1961.

7. Влияние ЭДТА на частоту хромосомных аберраций у облученных проростков гороха (совместно с Г. С. Юковой). Тезисы. Межвузовская Конференция по экспериментальной генетике I, стр. 181. ЛГУ. Ленинград 1961.

8. О механизме восстановления радиационных поражений на клеточном уровне (совместно с Н. В. Лучником, Н. А. Порядковой и Н. В. Тимофеевым-Ресовским). Тезисы. Конференция по проблеме «Восстановление радиационных повреждений», стр. 1. Минздрав СССР, Москва 1962 г.

9. Противолучевое действие цистеина при применении его после облучения семян гороха (совместно с Н. В. Лучником). Труды Уральского отд. МОИП вып. 3, стр. 43, Свердловск 1962.

10. Влияние защитных веществ при применении их после облучения на частоту хромосомных аберраций. В кн.: «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений». Изд. АН СССР, Москва 1962.

НС 25323 16/XI-1962 г. Зак. 4534 тир. 200

Свердловск, тип. отд. Трансжелдориздата