

ԵՐԵՎԱՆԻ ՖԻԶԻԿԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ
ЕРЕВАНСКИЙ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

受入

83-10-369

高工研図書室

ФИ-633(23)-83

Р.Р.АТАЯН

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛУЧЕВЫЕ
ПОВРЕЖДЕНИЯ.

III. ПОСТРАДАЦИОННЫЙ ТЕПЛОВОЙ ШОК

ԵՐԵՎԱՆ 1983 ԵՐԵՎԱՆ

Р.Р. АТАЯН

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛУЧЕВЫЕ
ПОВРЕЖДЕНИЯ

Ш. ПОСТРАДАЦИОННЫЙ ТЕПЛОВОЙ ШОК

Рассматриваются три возможных пути влияния пострadiaционного теплового шока на поражение покоящихся семян: прогрев, высушивание и удаление кислорода. На основании общих соображений показано, что усиление последствия под влиянием высокой температуры осуществляется через вполне определенный механизм - через удаление из семян воды. Принципиальная возможность усиления последствия в результате пострadiaционного высушивания семян была подтверждена экспериментально.

Ереванский физический институт

Ереван 1963

BM-633(23)-83

R.R.ATAYAN

INFLUENCE OF TEMPERATURE
ON RADIATION CYTOGENETIC DAMAGE
3. POST-IRRADIATION HEAT TREATMENT

Three possible ways of the influence of post-irradiation heat treatment on radiation damage to seeds, that is heating, drying and oxygen expulsion, are considered. It is suggested that heat-induced increase in biological after-effect can be accomplished by a definite mechanism, via removal of water from the seed.

Yerevan Physics Institute

Yerevan 1983

ЕРЕВАНСКИЙ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ФФИ-633(23)-83

Р.Р.АТАЯН

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛУЧЕВЫЕ
ПОВРЕЖДЕНИЯ.

Ш. ПОСТРАДАЦИОННЫЙ ТЕПЛОВОЙ ШОК

Ереван 1983

© *Ереванский физический институт*, 1983г.

Основное требование, предъявляемое к методике постановки радиобиологических опытов, сводится к строгому соблюдению постоянства всех, кроме специально изучаемых, параметров системы и уровней, сопутствующих облучению факторов [1]. Данные, представленные в предыдущем [2] и настоящем сообщениях, получены с учетом этого требования. Интерпретация результатов температурных радиобиологических опытов, однако, сопряжена со значительными трудностями даже при самом строгом контроле экспериментальных условий. Это связано со спецификой температуры как модифицирующего фактора: температурному воздействию неизбежно сопутствует изменение уровней кислорода и влажности. В определенных экспериментальных ситуациях эффекты самой температуры незначительны по сравнению с индуцированными температурой эффектами кислорода и влажности. Это неудивительно, так как кислород — основной фактор в формировании лучевых повреждений, а влажность — важнейший фактор, регулирующий степень проявления кислородного эффекта [3].

Тепловой шок вызывает в семенах определенные изменения и

эффект этот не зависит от того, применяется ли шок до или после облучения. Это, однако, не означает, что механизмы действия предрадиационных и пострадиационных тепловых шоков одни и те же. Роль предрадиационного теплового шока сводится к тому, что он переводит семена из исходного состояния в некоторое новое состояние, характеризующееся иными, нежели исходные, уровнями кислорода и влажности. При этом предрадиационный тепловой шок не вмешивается непосредственно в ход первичных радиобиологических процессов. В предыдущем сообщении [2] мы показали, что правильный выбор контролей позволяет оценить основные механизмы влияния предрадиационного теплового шока на начальное поражение семян и на биологическое последствие. В случае применения теплового шока после облучения вопрос о влиянии на начальное поражение снимается. Но ситуация от этого не упрощается. При действии пострадиационного теплового шока семена также теряют кислород и влагу, но это происходит на фоне физико-химических процессов развития первичного поражения, и трудно судить, в какой мере изменение уровня этих факторов может вмешаться в ход процессов допоражения. Тем более, что в этом случае существенное, если не решающее, значение может иметь влияние температуры *per se*.

В настоящем сообщении приводятся результаты исследования влияния пострадиационных тепловых шоков на выход хромосомных aberrаций в семенах гороха и *Cyperis capillaris*. Опыты с семенами *Cyperis*, описанные в предыдущем [2] и данном сообщениях, были поставлены совместно с Р.С.Каграманян, Дж.Е.Габриелян и Г.М.Авакяном, опыты с семенами гороха - с Л.Г.Степанян.

На рис. I представлена серия кривых доза-эффект, полученных при воздействии на семена *Crepis capillaris* влажности 10, 5,3 и 2,5% тепловыми шоками - 60, 80 и 100°C в течение 30 минут - непосредственно после X-облучения. Выход хромосомных aberrаций в метафазах учитывали при замачивании семян сразу после термического воздействия и после хранения в течение одной недели.

Семена влажности 10% никак не реагируют на примененные обработки. Поражение облученных семян влажности 5,3% усиливается в процессе пострadiационного хранения. При воздействии на эти семена температурой 100°C этот уровень поражения достигается уже в пределах 30 минут после облучения. Кривые доза-эффект для семян влажности 5,3%, подвергнутых тепловым шокам в 60 и 80°C, существенно не отличаются от основной кривой. В семенах влажности 2,5% наблюдается тепловое последствие при всех температурах для больших доз облучения. Эти семена реагируют на хранение, следующее за термическим воздействием, по-разному в зависимости от температуры: выход хромосомных aberrаций растет в семенах, обработанных температурой 60 и 80°C, но не 100°C. В области малых доз поражение в комбинированном варианте растет медленнее, чем в основном. А облучение в дозе 5 Гр оказывает даже некоторый "защитный" эффект против поражающего влияния теплового шока в 100°C.

Здесь следует сказать об одном факторе, который должно контролировать в опытах с пострadiационными шоками - факторе времени. Ведь всякий тепловой шок характеризуется двумя параметрами - температурой и длительностью. Если выход реакции при воздействии на семена пострadiационным тепловым шоком отлича-

ется от выхода реакции облученных семян, это еще не есть показатель того, что наблюдаемый эффект обусловлен именно температурой. Следовательно, наличие температурного эффекта будет корректно обосновано, если только показано, что выход реакции при воздействии на семена постшоком отличается от выхода реакции при пострadiационном хранении (при комнатной температуре) семян в течение периода, равного по длительности времени термической обработки. Такие контроли – пострadiационное хранение семян в течение 30 минут – нами были исследованы. Показано, что за это время в облученных семенах существенного развития поражения не наблюдалось (некоторое усиление поражения в сухих семенах незначительно на фоне наблюдаемого теплового последствия). Таким образом, при обсуждении представленных здесь результатов влиянием фактора времени можно пренебречь.

Для объяснения сложной зависимости цитогенетического эффекта от дозы при действии на семена влажности 2,5% предрадиационных тепловых шоков мы постулировали, что: (1) радикалы, индуцируемые термическим воздействием, вовлекаются, по крайней мере частично, в реакции, ведущие к образованию хромосомных aberrаций; и (2) радикалы, индуцированные высокой температурой, могут безвредно исчезать путем рекомбинации с радикалами, индуцируемыми облучением [4]. На основании этих постулатов можно, по-видимому, объяснить и начальный участок представленных в настоящем сообщении кривых доза-эффект для сухих семян: поражение при малых дозах существенно не изменяется благодаря тому, что радикалы, индуцируемые термической обработкой, достаточно эффективно нейтрализуют радикалы, индуцированные облучением.

Для рассмотрения процессов, происходящих в сухих системах р

пострадиационный период, удобно пользоваться в качестве рабочей модели свободнорадикальной концепцией в том виде, в каком её представил Конгер [5]. Согласно этой концепции, пострadiационное поражение обусловлено, по крайней мере частично, взаимодействием кислорода с долгоживущими органическими радикалами. Факторы, увеличивающие мобильность молекул, способствуют безвредной рекомбинации радикалов; факторы, уменьшающие мобильность молекул, препятствуя рекомбинации радикалов, способствуют их реакции с кислородом. Влажность семян и температура являются основными факторами, регулирующими мобильность радикалов и, следовательно, степень проявления последствия. В экспериментальной ситуации, рассматриваемой нами, следует учитывать: (1) влияние температуры через прогрев; (2) влияние температуры через удаление из семян воды; (3) влияние температуры через удаление из семян кислорода. Первый и третий механизмы ведут к уменьшению последствия, второй - к увеличению. Все указанные пути влияют в конечном счете на степень проявления кислородного эффекта, или, иными словами, на кислородозависимое поражение. Следует учесть еще одну возможность, приводящую к усилению поражения: в определенных условиях реакция облученных семян на высокую температуру может включать механизм, не зависящий от температурозависимого процесса развития пострadiационного кислородозависимого поражения [6]. Таким образом, возможны по крайней мере четыре пути, посредством которых пострadiационный тепловой шок может влиять на конечный выход радиобиологической реакции, причем два пути ведут к усилению реакции, два - к ослаблению. Контролировать в эксперименте вклад того или иного механизма в конечный эффект не представляется возможным.

Поражающее влияние пострadiационного теплового шока принято связывать с увеличением скорости развития биологического последствия при высоких температурах [7]. Это естественное представление основано на том наблюдении, что с повышением температуры пострadiационного хранения поражение семян усиливается. Наблюдение это само по себе не дает оснований считать, что эффект обусловлен увеличением скорости развития поражения (кислородозависимого) и объяснение, предложенное Конзаком, нельзя считать доказанным^{х)}. Серьезных возражений против этого объяснения также нет, и имеет смысл рассмотреть, каким путем может осуществляться влияние пострadiационных тепловых шоков на развитие последствия. Следствия из модели Конгера, рассмотренные нами выше, показали, что усиление последствия можно наблюдать только как результат высушивания семян, вызванного термическим воздействием, тогда как влияние через прогрев и удаление кислорода направлено в обратную сторону. Таким образом, ускорение последствия, которое предполагал Конзак, есть, по-видимому, не что иное, как усиление последствия в результате индуцированного тепловым шоком высушивания семян.

Мы пришли к определенному заключению о возможном механизме поражающего влияния пострadiационного теплового шока, но рассуждения наши были основаны на косвенных соображениях, продиктованных моделью Конгера. Следовало в прямом эксперименте

х) Конгер наблюдал аналогичный эффект, но он был осторожен в своем заключении, отметив, что нельзя сказать, усиливает ли высокая температура поражение или только увеличивает скорость его развития [5]. Проверочный эксперимент был поставлен нами [6]. Мы показали адекватным методом, что высокая температура может усилить поражение согласно механизму, не связанному с эффектом хранения. Это, конечно, не исключает влияние через ускорение развития последствия.

показать принципиальную возможность модификации биологического последствия в результате пострadiационного уменьшения влажности семян иным, нежели термическая обработка, способом.

В серии опытов с семенами *Crepis capillaris* [8] мы показали, что быстрое пострadiационное высушивание в потоке сухого воздуха способно значительно усилить биологическое последствие - рис.2. Этот эффект наблюдался только в достаточно сухих (влажность ниже 7,6%) семенах, проявляющих в норме быстрый компонент последствия. В этой связи стоит напомнить, что пострadiационные тепловые шоки модифицируют выход реакции лишь при применении к семенам влажности 5,3 и 2,5%, но не 10%. Таким образом, можно считать корректно установленным, что индуцируемое термическим воздействием высушивание семян вносит определенный вклад в конечный цитогенетический эффект.

Здесь имеет смысл вернуться к нашим ранним результатам по влиянию пострadiационного шока на цитогенетические эффекты облучения [9] и обсудить их в свете приведенных выше рассуждений. Мы исследовали влияние пострadiационного теплового шока - 70°C в течение 30 минут - на семена гороха влажности 17%. Главной задачей было установить возможное влияние высокой температуры на восстановление лучевых повреждений хромосом. Критерием восстановления лучевых повреждений хромосом служит наклон кривых время-эффект. Степень восстановления зависит от дозы: с повышением дозы восстановительная способность клетки уменьшается. При дозе 20 кР клетки вообще теряют способность восстанавливаться [10].

Схематическое изображение результатов опытов приведено на рис.3. Изображены кривые доза-эффект для конца первого митоза

основная - 1 и температурная - 2, а также - для начала первого митоза: основная и температурная кривые здесь совпали - 3. Дозовые кривые соединены кривыми время-эффект для доз 10 кР (основная - ab и температурная - ac) и 30 кР (основная - de и температурная - df). Главной целью данной серии статей было проиллюстрировать на конкретном экспериментальном материале важность и необходимость получения кривых доза-эффект при исследовании модификации радиобиологических реакций клеток сопутствующими облучению факторами. Результаты последнего опыта (рис.3) на первый взгляд не служат нашей главной цели: мы не заметили качественных различий между основной (1) и температурной (2) кривыми доза-эффект. Однако именно сравнительное рассмотрение этих кривых привело нас к заключению, что следует получить кривые доза-эффект для начала первого митоза (3) и кривые время-эффект для одной из больших доз. Таким путем мы пришли к двум важным выводам: (1) тепловой шок не влияет на начальный выход индуцированных облучением цитогенетических повреждений, а лишь на скорость убывания фрагментов со временем; (2) под влиянием теплового шока расширяется диапазон доз, в пределах которого может осуществляться восстановление цитогенетических повреждений. Таким образом, в определенных экспериментальных ситуациях для изучения модифицирующего влияния сопутствующих факторов на цитогенетический эффект облучения желательно иметь кривые доза-эффект как для начала, так и для конца первого митоза.

Мы не будем здесь рассматривать возможные механизмы влияния теплового шока на интенсивность репарационных процессов [9], а лишь попробуем оценить влияние индуцированного термическим воз-

действием высушивания семян на выход изучаемой реакции. Тепловым шоком в настоящем опыте снижал влажность семян на несколько процентов и это обстоятельство могло в принципе обусловить наблюдаемый эффект. Опыты, которые могли бы служить контрольными к нашим, были проведены на тех же семенах гороха Фесенко и Царапкиным [7]. Было показано, что пострадиационное хранение семян влажности 16-17% в сухой атмосфере приводит к усилению цитогенетического эффекта, выражающемуся в уменьшении наклона кривых время-эффект. Направляется вывод, что температурный эффект, полученный нами, высушиванием семян не объяснить. Правда, здесь сделаем следующую существенную оговорку. Снижение влажности, которое мы наблюдали за 30 минут термической обработки, в цитированном выше опыте достигалось за несколько суток. Достаточно быстрое высушивание семян гороха иным, нежели воздействие высокой температурой, методом вряд ли возможно, так что идеальный контроль к нашему опыту трудно представить. Данные, полученные Фесенко и Царапкиным, свидетельствуют о крайне сложной зависимости цитогенетического эффекта от влажности семян при хранении. В частности, уменьшение влажности семян на 1%, достигаемое за 12 ч, вызывает резкое возрастание поражения - - практически максимальный эффект, почти не изменяющийся с дальнейшим высушиванием семян. Конечно, столь необычная реакция семян на самое незначительное и медленное высушивание никак не может рассматриваться как довод против возможного уменьшения поражения при существенном и быстром высушивании. Таким образом, вопрос о влиянии теплового шока через высушивание решить на основании имеющихся данных невозможно. Создается впечатление,

что вопрос этот, ввиду невозможности подобрать адекватный контроль, вообще не поддается прямой экспериментальной проверке.

Экспериментальный материал, представленный в настоящем сообщении, дает достаточно полную картину влияния тепловых шоков на физико-химические процессы развития пострадиационного поражения благодаря получению кривых доза-эффект на фоне различных уровней сопутствующих облучению факторов. Интерпретация данных, однако, сопряжена с большими трудностями в связи с тем, что разыгрывающиеся конкурирующие процессы допоражения не поддаются прямому экспериментальному контролю.

Мы детально рассмотрели естественное предположение о поражающем влиянии высоких температур через ускорение процесса развития пострадиационного поражения, которое фактически не было экспериментально обосновано. На основании общих соображений, продиктованных моделью Конгера, мы показали, что усиление последствия высокой температурой может осуществляться через вполне определенный механизм - через удаление из семян воды. Принципиальная возможность усиления последствия в результате пострадиационного высушивания семян была экспериментально подтверждена [8]. Температурное усиление поражения, не связанное со скоростью развития пострадиационного кислородозависимого поражения, также показано [6].

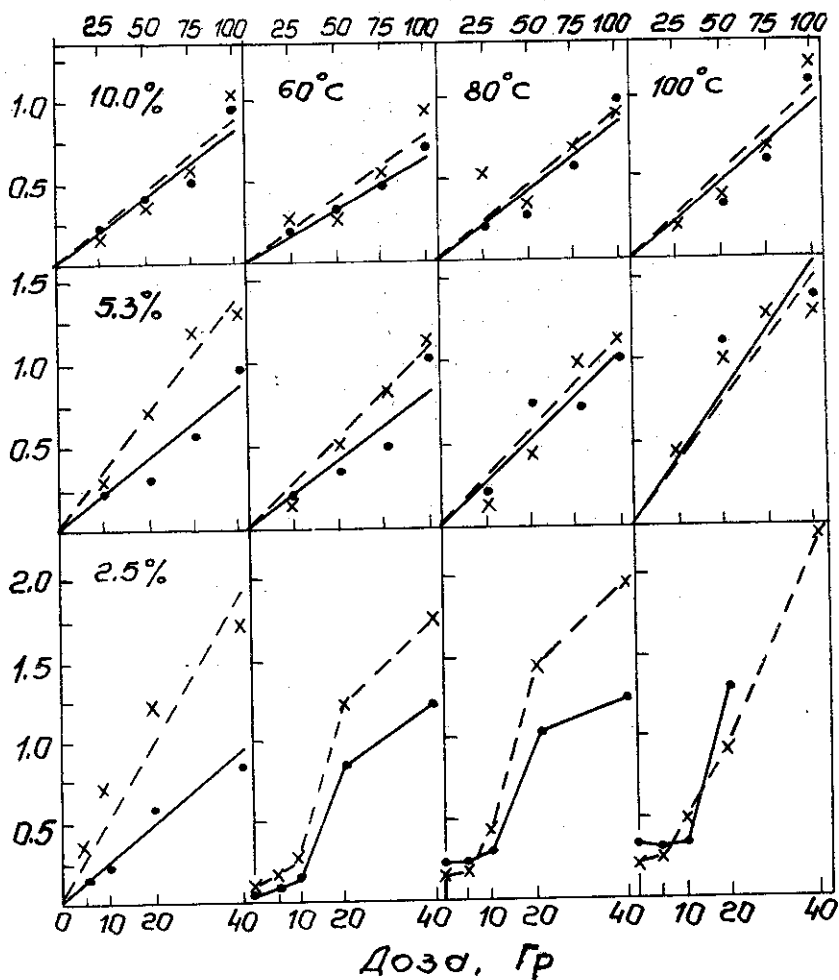


Рис. I Влияние пострadiационных тепловых шоков на выход хромосомных aberrаций в семенах влажности 10.0, 5.3 и 2.5%.
 Замачивание: сразу после шока —●—, после хранения — —x— —. Ось ординат — число хромосомных aberrаций на клетку.

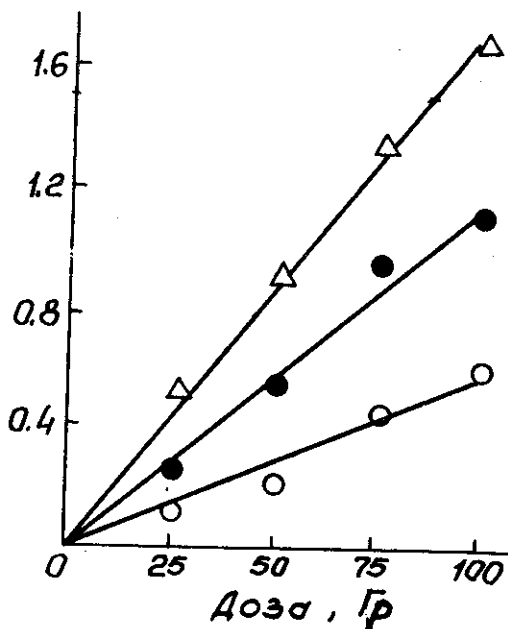


Рис.2 Влияние пострadiационного высушивания на биологическое последствие в семенах влажности 6%. Хранение: 0 часов - ○ ; 4 часа в исходной атмосфере - ● ; 4 часа в сухой атмосфере - ▽ . Ось ординат как на рис.1.

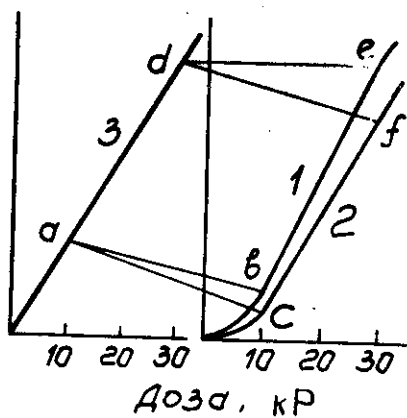


Рис.3 Схематическое изображение результатов опытов по влиянию пострadiационного теплового шока на выход фрагментов в зависимости от дозы облучения и от времени фиксации материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодин В.И. Применение принципа попадания в радиобиологии. М.: Атомиздат, 1968.
2. Атаян Р.Р. Влияние температуры на цитогенетические лучевые повреждения. II. Предрадиционный тепловой шок. Препринт БИИ-632(22)-83, Ереван 1983.
3. Conger B.V. Control and modification of seed radiosensitivity. Trans. ASAE, 1972, vol.15, p.780-784.
4. Atayan R.R. Combined effects of high temperature and X-rays in dry seeds. Stud. biophys., 1978, vol.68, p.71-78.
5. Conger A.D. Biological after-effect and long-lived free radicals in irradiated seeds. J.Cell.Comp.Physiol., 1961, vol.58, (Suppl.I), p.27-32.
6. Atayan R.R. On interrelation between heat and storage in modification of X-ray injury to Crepis seeds. Environ. Exp. Bot., 1979, vol.19, p.69-74.
7. Konzak C.F., Curtis H.J., Delihias N., Nilan R.A. Modification of radiation induced damage in barley seeds by thermal energy. Can.J.Genet.Cytol., 1960, vol.2, p.129-141.
8. Atayan R.R., Gabrielian J.Y. The influence of postradiation moisture alteration on biological after-effect in Crepis seeds. Environ. Exp. Bot., 1978, vol.18, p.9-17.
9. Атаян Р.Р. Влияние температурных шоков на частоту хромосомных aberrаций, вызванных облучением семян. Радиобиология, 1968, т.8, № 4, с.603-608.

- Ю. Лучник Н.В., Изможеров Н.А., Порядкова Н.А., Царапкин Л.С., Тимофеев-Ресовский Н.В. Обратимость цитогенетических повреждений, вызванных радиацией. М., АН СССР, 1960.
- II. Фесенко Э.В., Царапкин Л.С. Об эффекте пострadiационного хранения семян, облученных при разной влажности. Радиобиология, 1973, т.13, с.407-411.

Рукопись поступила 17 января 1983 г.

Редактор Л.П.Мукаян
Тех.редактор А.С.Абрамян

Заказ 130

ВФ- 04360

Тираж 250

Препринт ВФИ

Формат издания 60 x 84/16

Подписано к печати 19/У-83г. 1,0 уч.-изд.л. Ц15к.

Издано Отделом научно-технической информации
Ереванского физического института Ереван 36, Маркяна 2

индекс 3624