

ПРИМОРДІАЛЬНА ЯЙЦЕКЛІТИНА МИШІ ЯК ЕКОЛОГІЧНИЙ МАРКЕР РАДІАЦІЙНОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Ювенільні миші опромінювались ^{60}Co в дозах 7,5 та 20 сГр. Ультраструктурні ефекти досліджували стереологічно впродовж 6—24 год. та 2—10 днів після опромінення. Результати засвідчили, що в змінах проникності мембран примордіальних яйцеклітин після сублетального опромінення провідним є феномен нетривіальних коливань із періодичними змінами напрямів трансмембранних потоків. Летальні дози опромінення викликають ультраструктурні дефекти мембранних структур.

1. Вступ

Антропогенна криза довкілля, злива застережень екологів про її згубні для людства й загалом для планети наслідки — все це збудило в країнах Заходу потужний суспільний рух, що згодом одержав назву *environmentalism*. Цей масовий екологічний рух змусив уряди, законодавчі, політичні й ділові кола провідних держав визнати необхідність негайних, невідкладних дійових заходів для збереження довкілля, попередження нищівних локальних і планетарних наслідків його кризи.

У зв'язку з цим радикальним поворотом до екологічних проблем на всіх рівнях — муніципальних, корпоративних, національних, міжнародному — постало кардинальне питання: як найефективніше використати наявні ресурси (а вони завжди обмежені), щоб досягти наслідків, насправді найкращих для людства й навколишнього середовища? Відповідь на це фундаментальне питання повинна визначити напрями екологічних програм наступного 21-го століття.

Пошуки цієї відповіді спонукали не тільки дослідників, а й урядові кола провідних країн, керівництво впливових організацій і бізнесових структур звернутися до невичерпного потенціалу екологічної індикації й спонсорувати 1-й міжнародний симпозіум [1]. За загальною погодженою оцінкою, екологічні маркери та індикатори можуть бути використані як, можливо, найінформативніший і водночас найдешевший спосіб оцінки забруднення середовища та стану його “здоров'я”.

У даному контексті для України найактуальнішим є той аспект проблеми, що стосується впливу радіації малих доз і потужностей на живі

організми, а особливо — ефектів радіації з токсикантами. Медичні та екологічні дослідження в цьому напрямку тільки-но розпочинаються. Їхня успішність, результативність залежатимуть від того, наскільки чутливо, адекватно й репрезентативно екологічні маркери та індикатори відображатимуть можливі аддитивні, синергічні, антагоністичні, промоторні та інші впливи й механізми такої взаємодії забруднень у довкіллі.

Вихідною засадою цього дослідження стало узагальнення досвіду світової радіаційної медицини, набутого в останній чверті століття. У деяких видів ссавців ооцитам на певній і відносно нетривалій стадії їхнього розвитку властива тимчасова і вельми висока радіаційна чутливість. Це — незрілі, малі ооцити примордіальних фолікулів [2, 3].

В залежності від виду та віку тварин, а також стадії дозрівання гермінативних клітин радіочутливість ооцитів ссавців дуже варіює. Найбільша сприйнятливості до опромінення спостерігалась у миші [4—8], свині та деяких видів мавп у пренатальнім періоді [9, 10]. Відносно вікової залежності помічено, що висока чутливість ооцитів миші є постнатальним феноменом.

Наведеними засадами та вихідними даними визначається актуальність і тематична спрямованість даного дослідження, а також вибір його об'єкта: вивчення впливу йонізуючої радіації в малих дозах на найчутливіший клітинний компонент — незрілий ооцит.

2. Матеріал і методи

Ювенільні самки мишей BALB/c віком 6—7 днів (після народження) одноразово опромінювались на установці РОКУС-М, заряд ^{60}Co , по-

тужність дози 45,9 р/хв., поле 20x20 см, ВДО 1 м, доза на ділянку 7,5 сГр та 20 сГр. Тварини забивались під раушнаркомом через 6, 12 та 24 год., 5, 7 і 10 діб після зовнішнього одноразового опромінення. Крім цього, досліджено дві групи контрольних тварин: віком 6—7 та 15 днів. Всього зібрано матеріал від 50 тварин.

Для електронномікроскопічного дослідження відбирались яєчники. Матеріал фіксували в 1 % розчині чотириокису осмію 2 год. на холоді. Об'єкти оброблялись за загальноприйнятими для електронномікроскопічних досліджень методиками. Після ідентифікації примордіальних ооцитів на оптико-мікроскопічному рівні проводилось прицільне виготовлення та контрастування ультратонких зрізів. Зрізи для мікроскопії переносили на електронний мікроскоп ЭМВ-100БР. Фотографування проводили при збільшеннях у 10 тисяч разів.

Стереологічні ультраструктурні дослідження проводились так, як і в попередньому повідомленні [11].

3. Результати й обговорення

Після одноразового зовнішнього гамма-опромінення в сублетальних для примордіальних ооцитів дозах (7,5 сГр) стереологічні параметри ендоплазматичної сітки, що характеризують абсолютні розміри та відносне представництво органели в цитоплазмі, зазнають достовірних, коливальних змін, що тривають до 7 днів від опромінення й не супроводжуються будь-якими значними ультраструктурними пошкодженнями мембран.

Опромінення тією ж самою дозою викликає в мітохондріях коливальні зворотні зміни стереологічних параметрів, що характеризують абсолютну величину і відносний об'єм. Ці зміни тривають до 10 днів.

Пострадіаційна кінетика досліджених стереологічних показників відображає окремі та супряжені ефекти змін ендоплазматичної сітки, мітохондрій та плазматичної мембрани для потоків, здатних викликати стереологічно відчутні плюс- та мінус-зміни об'ємів органел і яйцеклітини загалом. Провідним мотивом у пострадіаційних змінах мембранної проникності виступає феномен нетривіальних коливальних відхилень трансмембранних потоків від стабілізованої рівноваги з періодичними переминами домінантних напрямків.

Дані дослідження свідчать, що пострадіаційні зміни мембранних систем виникають внаслідок порушення регуляції мембранної проникності. Ця регуляція для трансмембранних потоків, здатних викликати стереологічно відчутні зміни об'ємів цитоплазматичних органел і клітини в цілому, здійснюється за принципом зворотного

зв'язку. Гамма-опромінення, ще недостатнє для пошкодження ультраструктури досліджених мембран, індукує оборотні порушення в системі регуляції їхньої проникності. Ці пошкодження проявляються збільшенням тривалості затримки в петлі зворотного регуляторного зв'язку та пригніченням механізму, що забезпечує демпфування відхилень трансмембранних потоків від неколивальної рівноваги. Гіперчутливість обох компонентів регуляції до малих доз гамма-опромінення виступає як спільна властивість досліджених мембранних систем у примордіальних яйцеклітинах миші.

Виявлені загальні ознаки порушень, викликаних опроміненням, їхні системні масштаби в поєднанні з вираженою синхронністю — все це вказує на можливе значення їхніх грізних наслідків не лише для розглянутої функції клітини, а й для її життєдіяльності, для збереження її як єдиного цілого в ситуації, коли досліджені події стануть необоротними.

Після загального одноразового зовнішнього впливу гамма-опромінення в летальних для примордіального ооцита дозах (20 сГр) протягом першої доби домінує порушення рівноваги трансмембранних потоків з посиленням доступного для стереометричної ідентифікації притоку в яйцеклітину, збільшення об'ємів її ендоплазматичної сітки і мітохондрій. Через 3 доби і впродовж всього періоду спостережень після опромінення в яєчниках на напівтонких зрізах практично не виявляються примордіальні фолікули.

4. Узагальнення

Одержані дані в їхній сукупності можна розглядати як ультраструктурне обґрунтування рекомендації використовувати популяцію примордіальних ооцитів 7-денних мишат BALB/c як високочутливий до радіації клітинний маркер для оцінки радіоактивного забруднення зовнішнього середовища. Ця ж клітинна система може бути використана для поглибленого вивчення ефектів малих доз опромінення та оцінки фармпрепаратів на протипроменеву активність.

Переваги запропонованого екологічного маркера забезпечуються широкими можливостями його використання для оцінки, принаймні, двох рівнів радіоактивного забруднення, а саме таких, що охоплюють порогові, сублетальні для чутливих соматичних клітин величини забруднення, і летальні та суперлетальні навантаження на навколишнє середовище.

Використання лабораторної миші як індикаторного виду забезпечує відносно скромну вартість необхідних аналітичних досліджень і можливість транспортування індикатора в будь-яку ділянку середовища в будь-який час.

1. McKenzie D. H., Hyatt D. E. and McDonald V. J. (eds). Ecological Indicators, vol.1, 2.— London: Chapman and Hall, 1995.— 1567 p.
2. Baker T. G., Neal P. Action of ionizing radiations on the mammalian ovary // The ovary. — New York: Academic Press, 1977. V. 3.— P. 1—58.
3. Dobson R. L., Felton J. S. Female Germ Cell Loss from Radiation and Chemical Exposures // Am. J. Industrial Medicine.— 1983.— V. 4.— P. 175—190.
4. Стрельникова Н. К., Висленко О. В. Зависимость радиочувствительности фолликулов разных стадий зрелости от возраста мыши // Действие малых доз ионизирующих излучений на гонады и плод: Тез. докл. Всесоюз. конф.— Обнинск, 1988.— С. 69—71.
5. Russel W. L., Russel L. B., Phipps E. L. Extreme sensitivity of an immature stage of the mouse ovary to sterilization by irradiation // Science.— 1959.— V. 129.— P. 1288.
6. Oakberg E. F. Gamma-ray sensitivity of oocytes in immature mice // Prog. Soc. Exp. Biol. Med.— 1962.— V. 109.— P. 763—767.
7. Peters H. Age dependence of radiosensitivity of mouse oocytes // Radiation and Aging.— London: Taylor and Francis, 1966.— P. 281—292.
8. Dobson R. L., Cooper M. F. Tritium toxicity: Effect of Low — Level HON exposure on developing female germ cells in the mouse // Radiat. Res., 1974.— V. 58.— P. 91—100.
9. Erickson B. H. Interspecific comparison of the effects of continuous ionizing radiation on the primitive mammalian stem germ cell // Developmental Toxicology of Energy-Related Pollutants.— Washington: US Department of Energy, 1978.— P. 57—67.
10. Dobson R. L., Koehler C. G., Felton J. S. et al. Vulnerability of female germ cells in developing mice and monkeys to tritium, gamma rays, and polycyclic aromatic hydrocarbons // Developmental Toxicology of Energy-Related Pollutants.— Washington: US Department of Energy, 1978.— P. 1—14.
11. Малюк В. І., Замостян В. П., Куфтирева Т. П., Стеченко Л. О. Пострадіаційні пульсації проникності мітохондрій у нервових клітинах кори головного мозку // Наукові записки.— Київ: Видавничий дім “КМ Академіка”, 1998.— Т. 5.— С. 58—67.

Malyuk V. I., Stechenko L. O., Kuftyreva T. P.
**PRIMORDIAL OOCYTE AS AN ECOLOGICAL
MARKER OF RADIATION POLLUTION**

Juvenile mice were irradiated with ^{60}Co in dose of 0,075 and 0,20 Gy. Ultrastructural membrane effects were studied stereologically for 6—24 hours and 2—10 days after exposure. Results indicated that the main feature in changes of membrane permeability of oocytes induced with sublethal irradiation (0,075 Gy) is the phenomenon of untrivial oscillations with periodical changes of dominant directions of transmembrane flows. Lethal doses (0,20 Gy) induced ultrastructural defects of membranes.