

# ЕКОЛОГІЯ

УДК 576:001.891.57.

Замостян В. П., Алесіна М. Ю., Бондар О. Ю., Боринець Л. В.,  
Дзіцюк В. М., Карпенко Н. О.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ ВНУТРІШНЬОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ФУНКЦІЮ НЕРВОВО-М'ЯЗОВОГО АПАРАТУ ТА МУТАГЕНЕЗ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ У ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

*В даній роботі було проаналізовано вплив внутрішнього іонізуючого опромінення на функціональні властивості скелетної м'язової тканини та структуру хромосом. Було показано, що в тварин з внутрішнім опроміненням відбувається наростання контрактурних явищ під час тривалої непрямой електростимуляції, а в деяких випадках також спостерігається втрата здатності до стійкої скоротливої діяльності. В клітинах кісткового мозку при внутрішньому опроміненні спостерігається збільшення кількості аберантних клітин за рахунок поліплоїдії. Суттєвих змін частоти хромосомних аберацій типу дицентриків і парних фрагментів не виявлено.*

Проблема тривалого впливу малих рівнів іонізуючої радіації (як і інших шкідливих факторів довкілля) постала особливо гостро у зв'язку з наслідками Чорнобильської аварії та наступним погіршенням екологічної ситуації в Україні, та й у всьому світі.

Фахівці-радіобіологи поступово змінили свій оптимізм 60-х років на обережне ставлення до малих рівнів іонізуючого випромінювання, його прямих, опосередкованих, негайних та віддалених наслідків.

Раніше нами при вивченні впливу низьких рівнів зовнішнього опромінювання було показано, що у відносно віддалені строки після іонізаційного впливу, через 3—4 місяці (1/6 тривалості життя щурів) виникають виражені зміни функціональних властивостей нервово-м'язового апарату — зростання максимальної сили м'яза та падіння його здатності до тривалої скоротливої діяльності [1, 2]. Було також показано, що це пов'язано зі змінами у загальній нервово-гуморальній регуляції функції органів та систем і не залежить від впливу іонізуючої радіації безпосередньо на м'язи. При порівнянні змін, що відбувалися у соматичних клітинах (проліферативна активність, аберації хромосом) спостерігали деякі зміни цих показників, паралельні змінам у м'язовій функції. Процеси радіогенного мутагенезу на хромосомному рівні [3, 4, 5, 6] і їх порівняння зі змінами у функціях органів та систем являють особливий інтерес.

Крім визначення феномена зміни функціональних властивостей м'язів, знайдено ще одну важливу рису цих віддалених біологічних ефектів — характерну динаміку цих змін у часі. Так, досягаючи максимуму ефекту на 3—4 місяцях, з часом ефект поступово знижується і на 10—12 місяці після радіаційного впливу уже не проявляється на функціональних властивостях нервово-м'язового апарату. Цей факт, можливо, зовсім не означає, що зміни в органах і системах припинились. Вони повернулись до норми лише з даного показника. І це свідчить про певний перебіг адаптаційних процесів в організмі, викликаних впливом іонізуючої радіації. Проблема ж “зворотності” і “незворотності” змін залишається відкритою і повинна розв'язуватись у дальших комплексних дослідженнях.

Серед багатьох проблем, які необхідно вирішувати при вивченні віддалених наслідків впливу малих рівнів іонізуючого випромінювання на організм, окремо постає проблема відмінностей у реакції організму на зовнішнє та внутрішнє опромінення.

### *Матеріали і методи дослідження*

Досліди проводили на щурах, що утримувались у віварії м. Чорнобиля (ЧоНЦМД). Щури були поділені на три експериментальні групи, які відрізнялися між собою за ступенем забруднення їжі і питва (1, 2, 3 групи). Тестування й аналіз проб від щурів проводились через 2—4—7—12 місяців. Матеріали цієї роботи стосуються

даних, одержаних від експериментальних щурів на 12 місяці затравки радіонуклідами, що тривала.

Як і в попередніх дослідях, у цьому зрізі вивчали функціональні властивості нервово-м'язового препарату *in situ* в умовах непрямой електричної стимуляції при частоті стимулюючих імпульсів 40 Гц та амплітуді в 10 разів більшій, ніж порогова [1, 2]. Тривалість тесту 600 секунд, реєстрація тензограми та електроміограми через АЦП на дисках ПК IBM з використанням спеціально розробленої програми.

Аналіз частоти і видів змін структури геномного апарату на хромосомному і геномному рівнях проводили на клітинах кісткового мозку щурів. З клітин кісткового мозку, що одержували з стегнових кісток, готували хромосомні препарати та аналізували придатні для цитогенетичних досліджень метафазні пластинки [5, 7].

Математичну і графічну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютера IBM Pentium-120 з використанням можливостей програми Excel-7.

### Результати досліджень

Досліди з вивченням функціональних властивостей нервово-м'язового апарату проводили через 1 рік годування експериментальних щурів забрудненою їжею та напування водою від реактора в різних концентраціях. Як було показано раніше, на 4-му місяці дії цих факторів внутрішнього опромінення було виявлено тенденцію до зниження максимального тетанічного напруження м'яза при застосуванні 10-хвилинного тесту (неопубліковані дані).

В описуваних дослідях помічено велику розбіжність результатів, що позбавило можливості провести класичну статистичну обробку результатів за критерієм Ст'юдента. Тому видавалось доцільним проаналізувати їх візуально й евристично, базуючись на досвіді попередніх досліджень.

На рис. 1 подано типову тензограму 10-хвилинного тесту. Як видно з тензограми, у перші секунди електростимуляції нерва напруження м'яза досягає максимума — максимальне тетанічне напруження (МТН), після чого напруження поволі спадає і десь на 50—60-й секунді сти-

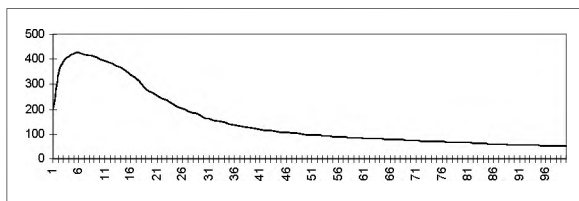


Рис. 1. Типова тензограма інтактного щура. Перші 100 с. Вісь X — час, с. Вісь Y — розвинуте напруження в мН

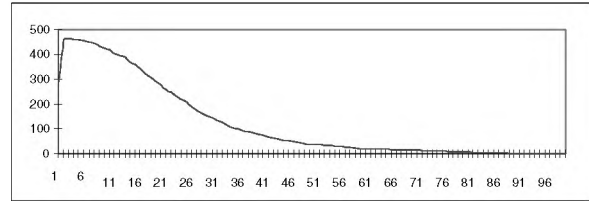


Рис. 2. Тензограма дослідного щура з відсутністю періоду стійкої працездатності. Позначки ті ж самі, що й на рис. 1

муляції настає певна стабілізація напруження — період стійкої працездатності. Кожен з цих етапів м'язової скоротливої функції має свої особливі біохімічні, гемодинамічні та фізіологічні характеристики.

У кожній з трьох серій було по 6 дослідів. На відміну від типової тензограми 10-хвилинного тесту, тензограми дослідних тварин відрізнялись певними особливостями. Так, нормальні тензограми зустрічались тільки в першій серії, а в решті серій спостерігали відсутність періоду стійкої працездатності або зростання напруження в періоді стійкої працездатності, що свідчило про розвиток контрактури. Ще одна особливість працездатності нервово-м'язового апарату дослідних тварин — це зростання максимального тетанічного напруження від 1 до 3 серії, що також може свідчити про поступове зростання контрактурного компонента. На рис. 2 представлено тензограму дослідного щура з відсутністю періоду стійкої працездатності.

На рис. 3 представлено тензограму дослідного щура з вираженим контрактурним компонентом у періоді стійкої працездатності.

Знайдені в даній роботі паттерни скоротливої функції м'язів розподілились таким чином. У 1 серії дослідів з 6 випадків у 2-х помітна нормальна тензограма з наявністю періоду стійкої працездатності, у 3-х випадках не було періоду стійкої працездатності, в 1-му випадку виявився контрактурний компонент. У 2-й серії дослідів у 3-х випадках не було періоду стійкої працездат-

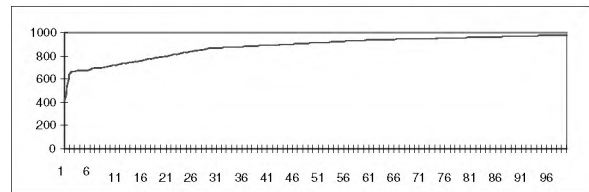
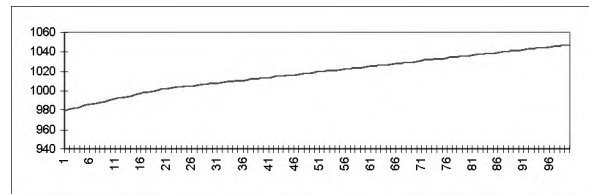


Рис. 3. Тензограма дослідного щура з вираженим контрактурним компонентом. Другий графік демонструє розвиток контрактури в наступні 100 с. Позначки ті ж самі, що й на рис. 1

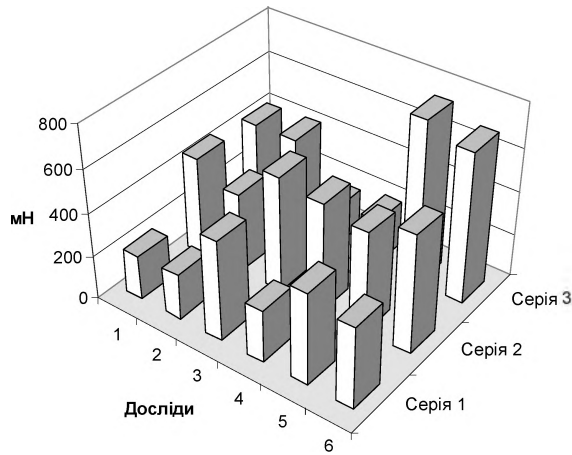


Рис. 4. Максимальне тетанічне напруження у 3-х серіях дослідів. Вісь *X* — нервово-м'язові препарати задніх кінцівок щурів, вісь *Y* — розвинуте м'язом напруження (мН), вісь *Z* — експериментальні групи з різним рівнем активності затравочного матеріалу, у 3-му було знайдено контрактурний компонент. У 3-ій серії дослідів у 4-х випадках не було періоду стійкої працездатності, у 2-х — виражений контрактурний компонент.

Як бачимо з представлених даних, є велика різноманітність даних, що утруднює їх статистичну обробку. В той же час у трьох експериментальних групах помітно певні тенденції щодо динаміки м'язового напруження в тесті. Складається враження, що від 1-ї до 3-ї експериментальної групи збільшується вираженість контрактурної реакції на електростимуляцію, а також у 3-ій серії збільшується кількість випадків втрати здатності м'яза до стійкої скоротливої діяльності.

Якщо порівняти між собою всі показники МТН нервово-м'язових препаратів трьох експе-

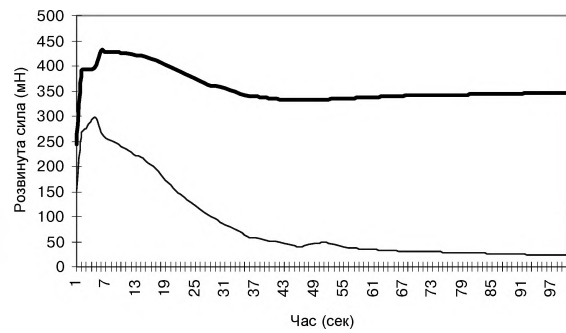


Рис. 5. Сумарні тензограми м'язів щурів експериментальних серій. Нижня крива — 1 серія, середня крива — 2 серія, верхня крива — 3 серія. Позначки ті самі, що і на рис. 1.

риментальних груп, то можна помітити також тенденцію до зростання цього показника від 1-ї до 3-ї експериментальної групи. Слід відзначити, що таке збільшення МТН не є результатом зростання скоротливої здатності м'язів, а, можливо, є результатом збільшення контрактурного компонента в розвитку МТН. МТН препаратів експериментальних груп представлені на трьохмірному графіку (рис. 4).

Незважаючи на велику розбіжність результатів як всередині груп, так і між ними, було зроблено спробу скласти середні результуючі тензограми кожної експериментальної групи і порівняти їх між собою в одному графіку. Результати такої графічної обробки представлені на рис. 5.

Як видно з графіка на рис. 5, сумарна тензограма препаратів 1-ї експериментальної групи (нижня крива) відрізняється від двох інших експе-

Таблиця 1

## Аберації хромосом клітин кісткового мозку дослідних щурів

№ експериментальної групи	№ проби	Кількість аберантних клітин	Дицентрики	Парні фрагменти	Ізохроматидні розриви	Поліплоїди
1	1	0				
	2	0				
	3	0				
	4	2	1		1	
	5	2	1			1
	Сума	4	2		1	1
2	1	1	1			
	2	2		1		1
	3	2		1	1	
	4	1				1
	Сума	6	1	2	1	2
3	1	4		1		3
	2	3	1			2
	3	4		1		3
	4	3			1	2
	Сума	14	1	2	1	10

периментальних груп меншим МТН і меншим рівнем напруження у періоді стійкої працездатності. Але слід зазначити, що ця крива найбільше відповідає формам кривих від інтактних щурів, або щурів з невеликими рівнями зовнішнього опромінення. Хід цієї кривої свідчить про наявність здатності підтримувати певний рівень тетанічного напруження при електростимуляції м'яза, що триває. Високий же рівень напруження м'язів у препаратів 2-ї і, особливо, 3-ї експериментальних груп свідчить про суттєві зміни скоротливих властивостей м'язів, пов'язаних, можливо, зі змінами процесів їхнього розслаблення.

### Цитогенетичні дослідження клітин кісткового мозку щурів

На таблиці 1 представлено результати цитогенетичного аналізу аберацій клітин кісткового мозку щурів трьох експериментальних груп. Кожний результат є кількістю випадків даного виду порушень структури хромосом на 100 проаналізованих клітин. У першому стовпчику представлено експериментальні групи, а їхня кількість по вертикалі є кількістю проб на кожен експериментальну групу. В таблиці представлено тільки ті види порушень хромосомної структури, які виявлені в даних серіях досліджень.

Ці дані було піддано графічній обробці. Отримані графіки демонструються на рис. 6.

Аналіз даних таблиці і графіка свідчить, що загальна кількість аберацій і змін у хромосомах усіх проаналізованих видів збільшується у напрямку від 1-ї до 3-ї експериментальної групи. Водночас, порівняння частоти появи маркерів впливу іонізуючої радіації — дицентриків і парних фрагментів — суттєво не змінюється від групи до групи. Не помітно змін також і в частоті випадків ізохроматидних розривів. Як видно з графіка і таблиці, основні розбіжності в частоті випадків змін з боку хромосомного апарату мають місце в явищі поліплоїдії. Чому саме поліплоїдія, яка може бути наслідком як радіаційного, так і хімічного впливу? Відомо, що поліплоїдам властива підвищена функціональна здатність. Поліплоїдія має велике значення загалом для виживання. З цими загальноновизнаними уявленнями узгоджуються дані й, на відміну од аберантних, поліплоїдні клітини не підлягають елімінації. Навпаки, їхня чисельність зростає. Можна думати, що поліплоїдних клітин значно більше, ніж у тих показниках, що їх вдалося зареєструвати в мітотичній фракції.

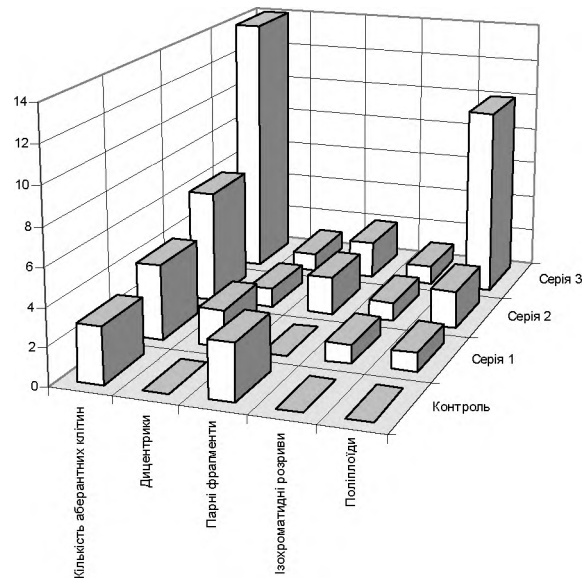


Рис. 6. Розподіл аберацій хромосом у щурів дослідних серій. Вісь Y — сумарна кількість видів порушення структури хромосом

Підставою для цього припущення є визнана властивість соматичних поліплоїдних клітин виходити із мітотичного циклу.

З функціональної точки зору зростання поліплоїдів можна розглядати як своєрідний прояв адаптації до несприятливого чинника.

### Висновки

1. Затравка радіонуклідами експериментальних тварин протягом року призводить до суттєвих змін функціональних властивостей нерво-м'язового апарату.
2. Ці зміни полягають у наростанні контрактурних явищ при тривалій непрямій електростимуляції, які виявляються як у періоді впрацьовування, так і в періоді стійкої працездатності.
3. У тварин з внутрішнім опроміненням протягом року часто спостерігаються випадки втрати здатності до стійкої скоротливої діяльності.
4. При внутрішньому опроміненні протягом року в клітинах кісткового мозку не знайдено суттєвих змін частоти хромосомних аберацій типу дицентриків і парних фрагментів, характерних для радіаційних пошкоджень.
5. При внутрішньому опроміненні протягом року в клітинах кісткового мозку помічено збільшення аберантних клітин за рахунок випадків поліплоїдії.
6. Слід відзначити збільшення випадків поліплоїдії в напрямку від 1-ї серії до 3-ї.

1. *Zamostyan V. P.* Об условиях неустойчивости скелетных мышц. Физиол. журн. СССР, 1976, т. 62, № 1.— С. 97—103.
2. *Zamostian V., Yanina A., Skeletal Muscles, Age and Delayed Effects of Radiation Exposure.* In: Open Problems of Human Radiobiology. The Post Chernobyl. Ed. P. Volpe, G. Ravagnan / Pisa: Pacini, Editore, 1993, pp. 85—91.
3. *Бочков Н. П., Чеботарев А. Н.* Наследственность человека и мутагены внешней среды // М.: Медицина, 1989.— 270 с.
4. Guidelines for the study of genetic effects in human populations Environmental Health Criteria // 46. WHO, Geneva.— 1985.
5. *Iijima Kumiko, Morimoto Kanehisa.* Quantitative analyses of the induction of chromosome aberrations and sisterchromatid exchanges in human lymphocytes exposed to  $\gamma$ -rays and mitomycin-C in combination // Mutat. Res. Mutat. Res. Lett.— 1991.— 263, N 4.— С. 263—268.
6. *Bondar A., Zamostian V., Riasenko V.* Long-Term Effects on Minks of the Radiation factors from the Chernobyl Accident. 1-st Decade after Chernobyl: Summing up the Consequences of the Accident. Vol. 2, International Conference in Vienna, 8—12 April 1996, pp. 383—391.
7. *Тарасов В. А.* Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза.— М.: Наука, 1982.— 228 с.

*Zamostian V. P., Alesina M. Ju., Bondar O. Ju.,  
Borinets L. I., Dzitciuk V. M., Karpenko N. O.*

**EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS  
OF PROLONGED INTERNAL IONIZING  
IRRADIATION INFLUENCE ON THE FUNCTION  
OF SKELETAL MUSCLE TISSUE  
AND MUTAGENESIS IN SOMATIC CELLS  
IN LABORATORY RATS**

In the above investigation the influence of the internal ionizing irradiation on the functional properties of the skeletal muscle tissue and structural changes of chromosomes it induces were analyzed. The growth of contraction pattern during the prolonged indirect electrical stimulation was observed and in some cases the loss of ability to contract was demonstrated in exposed animals. In bone marrow cells the.