

БИОЛОГИЯ

УДК 577.24: 575.22

И.Р. Князева, М.А. Большаков, А.А. Ельчанинов, А.И. Климов, В.В. Ростов

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКОГО МИКРОВОЛНОВОГО И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ ДРОЗОФИЛЫ

В сравнительном плане представлены результаты изучения действия импульсно-периодического микроволнового (удельная поглощенная мощность 2–10 Вт/кг) и рентгеновского излучений (суммарная доза от 0,2 до 100 мГр) на постэмбриональные стадии развития дрозофилы. Эффект воздействия зависит от стадии развития организма на момент воздействия, от частоты повторения импульсов и поглощенной дозы.

Анализ современной литературы показывает, что импульсные электромагнитные излучения более эффективно оказывают влияние на биологические системы, нежели непрерывные [1]. По имеющимся немногочисленным экспериментальным данным, подобное соотношение можно наблюдать и относительно импульсного рентгеновского излучения, биологическое действие которого в настоящее время практически не исследовано. В частности, показано [2, 3], что импульсное рентгеновское излучение оказывает влияние на развитие дрозофилы, облученной на эмбриональных стадиях развития (в первые сутки после оплодотворения). Это проявляется в увеличении процента прерывания развития и в отдельных случаях – тератизма. Как и в случае действия импульсного микроволнового излучения [3], эффект существенно зависит от частоты повторения импульсов. В то же время воздействие на имаго (взрослая дрозофила) не приводит к их гибели или стерильности.

Для исследования возрастной динамики биологической эффективности импульсно-периодического микроволнового и рентгеновского излучений представлялось актуальным рассмотреть наличие аналогичных эффектов на постэмбриональных стадиях развития дрозофилы (стадии личинок и куколки).

Исходя из изложенного, необходимо было исследовать влияние импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений на развитие дрозофил, подвергнутых облучению на постэмбриональных стадиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали мух *Drosophila melanogaster* линии Canton S из коллекции Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Для получения массовых синхронных выборок эмбрионов использовалась методика Делькура [4], модифицированная для условий электромагнитного воздействия [5]. Выборки личинок трех возрастов и куколок дрозофилы получали путём массовой синхронизованной кладки яиц мухами на питательную среду в пенициллиновые флаконы [4]. Время развития (возраст) отсчитывалось от начала кладки яиц мухами на питательную среду и определялось с точностью до 1 ч. Объёмы выборок составляли не менее 300 на каждую экспериментальную точку.

Источником импульсно-периодического микроволнового излучения служил магнетронный генератор «МИ-505», разработанный и изготовленный в ИСЭ СО

РАН (г. Томск), который генерировал микроволновые импульсы с центральной частотой 10 ГГц, длительностью импульсов 330 нс и плотностью мощности на объекте 4 кВт/см². Измерение величины нагрева питательной среды от каждого импульса производилось с помощью биомедицинского оптоволоконного термометра МТ-04 (Россия). Полученные данные о росте температуры среды использовались для расчета удельной поглощенной мощности.

Источником импульсного рентгеновского излучения служила установка «Синус-150», разработанная и изготовленная в ИСЭ СО РАН (г. Томск) (энергия электронов 260 кэВ, ток электронного пучка 4 кА, длительность импульсов 4 нс). Облучение осуществлялось при величинах поглощенной дозы радиации от 0,0015 до 0,05 мГр в импульсе. Заданная доза в импульсе устанавливалась за счет изменения расстояния от коллектора до облучаемого объекта. Зависимость дозы от расстояния предварительно измерялась с помощью термомлюминесцентного дозиметра КДТ-02М и электростатического дозиметра с кварцевым волокном VICTOREEN 541R.

Воздействию подвергались личинки 1-, 2-, и 3-го возраста (24, 48 и 72 ч соответственно) и куколки (возраст 7 сут) дрозофилы, которые однократно в течение 5 мин подвергались действию микроволнового или рентгеновского излучения при разных частотах повторения импульсов (в пределах 6–22 Гц).

Результаты экспериментов оценивались по величине процента прерванного развития (ППР), рассчитывавшегося как процент не вылетевших имаго из соответствующих кладок яиц, количество которых принималось за 100%. ППР учитывался в трех экспериментальных группах: 1) облученных; 2) «ложно облученных», т.е. подвергавшихся всем экспериментальным процедурам, что и облученные, но при выключенном генераторе; 3) контрольных, которые содержались в термостатируемых условиях (24–25°C) и по которым оценивалось текущее функциональное состояние лабораторной популяции мух. Эффект определяли по разности величин ППР в опытных группах и группах «ложно облученных». Статистическую значимость эффекта определяли по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов воздействию мощных микроволновых импульсов наносекундной длительности

подвергались личинки дрозофилы всех трех возрастов. Воздействие осуществлялось с использованием частот повторения импульсов 6, 10, 16 и 22 Гц. Удельная поглощенная мощность составила 2,5; 5; 7 и 10 Вт/кг соответственно.

Результаты проведенного исследования показали, что мощное микроволновое излучение оказывает значимое ($p \leq 0,05$) влияние на личиночные стадии развития мух (рис. 1).



Рис. 1. Влияние импульсно-периодических микроволновых излучений на личиночные стадии развития дрозофилы. По оси ординат – эффект воздействия, рассчитанный как разность между ППР опытных (ОП) и «ложно облученных» групп (ЛО) эмбрионов для каждого возраста, выраженный в процентах. 1 – личинки первой стадии; 2 – личинки второй стадии; 3 – личинки третьей стадии

Из рис. 1 видно, что наиболее чувствительными являются первый и третий возрасты, особенно при частоте повторения импульсов 22 Гц. На этой частоте эффект действия излучения на третий личиночный возраст более чем в 2 раза превышает ППР в «ложно облученной» группе. Личинки первого возраста оказались чувствительными к действию излучения при всех

частотах повторения импульсов. Исключением является второй возраст развития личинок. Воздействие на этой стадии при всех частотах (кроме 22 Гц) не приводит к достоверному увеличению ППР.

В случае импульсно-периодического рентгеновского излучения наблюдалось значимое ($p \leq 0,05$) влияние на все три личиночные стадии развития (рис. 2).



Рис. 2. Влияние импульсно-периодического рентгеновского излучения на постэмбриональные стадии развития. По оси ординат – эффект воздействия, рассчитанный как разность между ППР опытных (ОП) и «ложно облученных» групп (ЛО) для каждого возраста, выраженный в процентах. Штриховкой обозначено облучение при дозе 0,0015 мГр/импульс, белым – 0,05 мГр/импульс. 1 – личинки первого возраста; 2 – личинки второго возраста; 3 – личинки третьего возраста; 4 – куколки

Максимальный эффект обнаружен при облучении второй личиночной стадии импульсами с частотой следования 13 и 16 Гц при уровне дозы 0,05 мГр/импульс. Суммарная доза за 5 мин составила около 3 мГр. После облучения личинок первого возраста также выявилась высокая эффективность облучения на всех частотах следования импульсов (особенно на частотах 13, 16 и 22 Гц). Примечательно, что стадия куколки оказалась менее чувствительной к импульсному рентгеновскому излучению. Необходимо отметить и тот факт, что при воздействии на разные стадии развития дрозофилы рентгеновским излучением двух интенсивностей, отличающихся более чем в 30 раз, наблюдаются различия эффекта максимум в 2 раза.

Данное обстоятельство требовало дополнительного изучения дозовой зависимости эффекта после воздейст-

вия на постэмбриональные стадии развития дрозофилы. Так как в описанном выше эксперименте было выяснено, что личинки второй стадии оказались наиболее чувствительны к действию импульсно-периодического рентгеновского излучения, было решено сделать данный возраст личинок тестовым.

Результаты проведенного исследования показали (рис. 3), что импульсно-периодическое рентгеновское излучение с частотой следования импульсов 13 Гц оказывает значимое влияние на личинки второй стадии при всех использованных суммарных дозах (от 0,2 до 100 мГр).

Как видно из рис. 3, наибольший эффект (гибель до 74,2%) наблюдается при максимальной дозе, равной 60 мГр, а минимальный эффект (ППР в опытной группе 12,3%) при дозе 0,2 мГр. При частоте следова-

ния импульсов 22 Гц наибольший ППР наблюдается при дозе 100 мГр, а наименьший – при дозе 55 мГр.

Таким образом, эффект нелинейно зависит от поглощенной дозы.

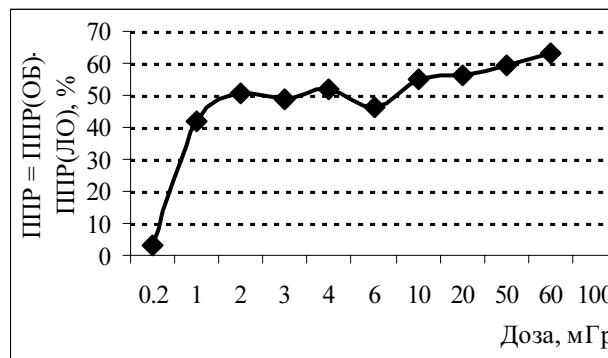


Рис. 3. Зависимость эффекта прерванного развития от дозы излучения при частоте следования импульсов 13 Гц

Зависимость эффекта воздействия от частоты следования импульсов можно объяснить тем, что повреждающее действие рентгеновского излучения усиливается или ослабляется на определенных частотах следования импульсов в связи с наличием собственных колебательных процессов клеточных систем (механических или биологических).

Наиболее чувствительной к микроволновому излучению оказалась третья стадия личинки, а к действию рентгеновского излучения – вторая. Высокую чувствительность личинок можно объяснить тем, что в это время происходит постоянная миграция и дифференцировка клеток. Стадия же куколки во всех экспериментах оказалась наименее чувствительной. На этой стадии процессы формирования органов, по-видимому, практически завершены, организм преодолел критический период развития и находится в покое перед выходом из пупариума. Это, очевидно, и объясняет наименьшую чувствительность куколок к воздействию различных факторов.

Сведений в литературных источниках относительно механизмов повреждающего действия импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений, особенно на стадии развития организма, крайне мало. Можно предположить несколько возможных сценариев развития событий, происходящих в развивающемся организме после облучения.

Поскольку импульсно-периодическое рентгеновское излучение, так же как и микроволновое, приводит к оста-

новке развития и гибели недоразвившейся особи, можно предположить существование общих мишеней для воздействия обоих видов излучения. Наиболее реальным представляется действие на мембрану и мембранно-связанные комплексы. Действие излучения при этом может быть направлено на изменение электрического заряда мембраны, а также инициировать перекисное окисление липидов. Последствия данного вида нарушений могут привести к гибели отдельных клеток и организма в целом. Одним из вариантов последствий указанного действия может быть активация программы гибели клеток (апоптоза) [6], что изменяет продолжительность жизни организма и, возможно, ее репродуктивную функцию.

Кроме этого, следует отметить тот факт, что эффект воздействия значителен при малых величинах суммарной поглощенной мощности (до 100 мГр). По мнению Е.Б. Бурлаковой, механизмы сильного влияния малых доз могут быть связаны с репарационными процессами [7]. Согласно этим представлениям, если мощности и дозы облучения невелики, то сигнальные системы разных уровней еще не улавливают такие воздействия и не запускают механизмы репарации. В результате все полученные организмом радиационные повреждения реализуются, а наблюдаемый при этом эффект будет более значительным, чем при воздействии даже многократно большей дозы.

По нашему мнению, полученные результаты ставят больше вопросов, чем дают ответов, и подталкивают к продолжению исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев Ю.Г., Степанов В.С., Григорьев О.А., Меркулов А.В. Электромагнитная безопасность человека: Справочно-информационное издание. Российский национальный комитет по защите от неионизирующего излучения, 1999. 148 с.
2. Большаков М.А., Князева И.Р., Линдт Т.А., Евдокимов Е.В. Воздействие импульсно-модулированного низкими частотами ЭМИ 460 МГц на эмбрионы дрозофил // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 4, № 4. С. 399–402.
3. Большаков М.А., Бугаев С.П., Гончарик А.О. и др. Воздействие мощного микроволнового излучения наносекундной длительности на некоторые биологические объекты // ДАН. 2000. Т. 371, № 5. С. 691–695.
4. Хромых Ю.М. Некоторые методы культивирования дрозофилы в современном генетическом эксперименте // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. Новосибирск: Наука, 1977. С. 204–225.
5. Большаков М.А., Евдокимов Е.В., Мищенко О.В., Плеханов Г.Ф. О влиянии ЭМИ дециметрового диапазона на морфогенез дрозофил // Радиационная биология. Радиоэкология. 1996. Т. 36, № 5. С. 676–680.
6. Москалев А.А., Зайнуллин В.Г. Изучение роли апоптотической гибели клетки в радиационноиндуцированном старении у *Drosophila melanogaster* // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41, № 6. С. 650–652.
7. Бурлакова Е.Б. Биологические эффекты малых доз радиации // Экологическая антропология. Разд. VII: Научная жизнь и сообщения. Минск: Дзеці Чарнобыля, 2001. С. 360–362.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 31 июля 2007 г.