

Н.В. ТОРДІЯ, Д.М. ГРОДЗИНСЬКИЙ
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
НАН України, Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ШВИДКОСТІ РУХУ ЦИТОПЛАЗМИ ЯК ЦИТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД В РАДІОБІОЛОГІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ



За допомогою цитофізіологічного методу визначення швидкості руху цитоплазми оцінено вплив іонізуючої радіації, електромагнітного випромінювання (ЕМВ) надвисокої частоти та їх комбінованого впливу на диференційовані клітини вищої водної рослини *Elodea canadensis*. Встановлено, що ЕМВ низької інтенсивності модифікує реакцію диференційованих клітин на радіаційне ураження. Показано, що швидкість руху цитоплазми може використовуватись як інформативний показник стану рослинної клітини в умовах радіобіологічного експерименту.

© Н.В. ТОРДІЯ, Д.М. ГРОДЗИНСЬКИЙ, 2004

Вступ. Рух цитоплазми — універсальний параметр всіх живих клітин, що віддзеркалює всі зміни їх функціонального стану. Встановлено, що рух цитоплазми забезпечує структурну організацію живої клітини, її енергетичний обмін, веде до збалансованого розповсюдження попередників біосинтезу, продуктів біогенезу, впливає на мембранні потоки [1].

Інтегративним показником руху цитоплазми є його швидкість. Швидкість руху цитоплазми (ШРЦ) досліджувалась рядом авторів [2–5]. Деякі з них зверталися до ШРЦ для вивчення різноманітних впливів фізичної та хімічної природи на клітину [6, 7]. Однак рух цитоплазми не використовувався для вивчення механізмів впливу електромагнітного випромінювання низької інтенсивності (ЕМВ НВЧ) та його комбінованої дії з іонізуючою радіацією, хоча застосування циклозу може бути корисним для розв'язання таких проблем, як пояснення механізмів впливу випромінювань електромагнітної природи на живі організми, модифікація радіобіологічних реакцій диференційованих клітин та розкриття причин їх високої радіостійкості.

Разом з тим дослідження та аналіз комбінованої дії електромагнітних випромінювань низької інтенсивності та іонізуючої радіації нині є важливим питанням, оскільки на даному етапі розвитку суспільства екологічна ситуація склалась таким чином, що ці два типи випромінювання відіграють надзвичайно важливу роль у функціонуванні живих об'єктів. Розуміння механізмів і наслідків взаємодії цих факторів являє значний інтерес як з чисто наукової, так і з практичної точки зору.

Метою наших досліджень була оцінка впливу іонізуючої радіації та електромагнітного випромінювання надвисокої частоти на диференційовані клітини елодеї канадської (*Elodea canadensis*) за критерієм швидкості руху цитоплазми та виживання.

Матеріали та методи. Експерименти проводились на клітинах цілісних листочків вищої водної рослини родини Водокрасові (*Hydrocharitaceae*) — *Elodea canadensis*, які знаходяться поблизу центрального судинно-волокнистого пучка. Використовували акваріумну культуру, котра вирощувалась в умовах денного освітлення при температурі 19 °С на водопровідній воді. Вибір об'єкта був зумовлений особливостями клітинного метаболізму цитоплазми *Elo-*

dea canadensis, а саме ротаційним рухом її цитоплазми. Ротаційний рух можна легко зафіксувати під мікроскопом за допомогою окуляр-мікрометра, секундоміра та виразити в стандартних одиницях виміру швидкості [1, 5]. Цитоплазма в клітинах рухається вздовж бічних стінок з тою чи іншою постійною швидкістю, що дозволяє провести заміри з достатньо високою точністю. Також важливим для нас було те, що ця рослина достатньо пристосована до широкого діапазону можливих змін рН середовища і отримати її культуру нескладно. Як показник ротаційного руху використовували рух хлоропластів, що обумовлений рухом цитоплазми.

В усіх експериментах використовували листочки одного віку, які розташовані біля верхівки пагона, на однаковій відстані від точки росту гілочок, щоб виключити факт старіння. Швидкість руху цитоплазми в клітинах листочків *Elodea canadensis* вимірювали відразу ж після опромінення і далі через кожну годину. Для цього використовували окуляр-мікрометр і, реєструючи час за допомогою секундоміра, встановлювали швидкість переміщення окремих хлоропластів в клітині вздовж лінійних ділянок довгих бічних стінок клітин за методикою Штруггера [8]. Спостереження проводилися в прохідному світлі (мікроскоп NU, об'єктив 63, окуляр 15). Виявилося, що ШРЦ — достатньо варіабельна величина, і тому для зручності ми користувалися відносними одиницями, щоб виключити вплив можливих змін інтенсивності освітлення та температури під час проведення експерименту.

Опромінення іонізуючою радіацією ізолюваних листочків здійснювали на установці «Исследователь» з джерелом радіації ^{60}Co при потужності дози 0,068–0,050 Гр/с в діапазоні доз від 25 до 4600 Гр. Як джерело електромагнітних випромінювань використовували генератор високочастотних коливань «Порог», який забезпечує генерацію імпульсів випромінювання в діапазоні частот 30–70 ГГц з частотою повторення 100 Гц при щільності потоку потужності 10^{-8} Вт/см². Тривалість опромінення ЕМВ НВЧ становила 30 хв, оскільки з літературних джерел відомо, що прояв ефектів ЕМВ не залежить від часу опромінення [9] і згідно з нашими попередніми дослідженнями цього

часу цілком достатньо для виникнення зміни ШРЦ в клітині [10].

Для оцінки виживання диференційованих клітин ми застосували метод вітального забарвлення, а саме забарвлення метиленовим синім. Препарати листочків *Elodea canadensis* витримували у розчині метиленового синього, який готували з розрахунку 100 мг в 100 мл дистильованої води, а потім через 40 хв після фарбування підраховували кількість живих і загинувших клітин у різних варіантах [11]. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою пакета програм SPSS.

Результати досліджень та їх обговорення. Досліджуючи закономірності поведінки ШРЦ у контролі в динаміці ми встановили, що протягом дня спостерігаються незначні зміни абсолютних значень контролю, які коливаються у межах 10%-ного інтервалу. Невеликі коливання характеризують нормальні адаптивні реакції рослинної клітини на незначні зміни навколишнього середовища, такі як рН, температура, освітлення і т.п. [3, 5, 12].

Для розкриття особливостей впливу іонізуючого випромінювання на основні параметри швидкості руху цитоплазми необхідно було дослідити динаміку ШРЦ після опромінення в часі. Нами було встановлено, що гостре опромінення впливає на швидкість руху цитоплазми. З'ясувалося, що дози до 25 Гр практично не змінюють ШРЦ. При опроміненні в дозах 25 та 30 Гр спостерігається тенденція до стимуляції швидкості руху цитоплазми, яка виявляється відразу після опромінення (рис. 1, а). Після опромінення в дозі 25 Гр пік цієї стимуляції ШРЦ спостерігався через 1 год після опромінення, а в другому варіанті — на 180-й хвилині. Після стимуляції відзначалося пригнічення ШРЦ. Ефект стимуляції ШРЦ під дією іонізуючого випромінювання можна пов'язати з клітинними процесами, які відбиваються на цьому показнику. Як відомо, окислювально-відновні процеси в клітині легко порушуються під дією іонізуючої радіації. Пошкодження мембран з наступною активацією процесів перекисного окислення ліпідів, збільшення концентрації вільних ненасичених жирних кислот інгібують процеси окислювального фосфорилювання. Оскільки циклоз напряму пов'язаний з цими процесами, не виключено, що сти-

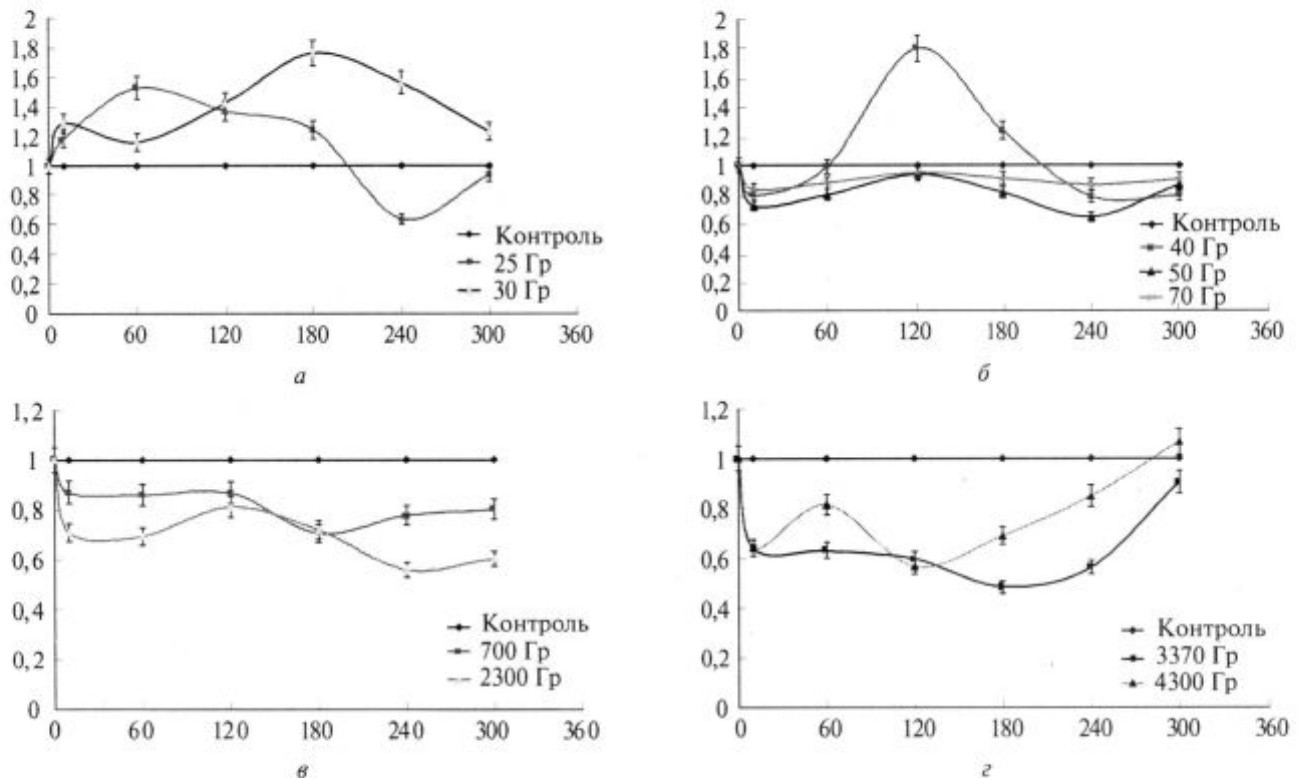


Рис. 1. Динаміка швидкості руху цитоплазми в часі під впливом іонізуючої радіації: по вертикалі — ШРЦ, відн. од., по горизонталі — час, хв

муляція ШРЦ може бути пов'язана з потребою заміни окислених форм мембранних ліпідів. Для цього, в свою чергу, потрібно посилити транспорт речовин в клітині, який здійснюється рухом цитоплазми.

Починаючи з 40 Гр картина динаміки радіаційно модифікованої ШРЦ змінюється, що знайшло прояв у різкому пригніченні швидкості руху відразу після опромінення, з наступним її відновленням і навіть перевищенням контрольного рівня (рис. 1, б). Після опромінення в дозах 40, 50, 70 Гр ШРЦ досягає найбільших значень через 2 год після опромінення. Як можна бачити з рис. 1, б, сплеск ШРЦ, що відбувається на 120-й хвилині після опромінення, характерний лише для варіанта, опроміненого в дозі 40 Гр.

Як було показано в наших попередніх дослідженнях [13], клітинам притаманні свої швидкості руху цитоплазми, які характеризуються нормальним типом розподілення за нормальних умов. В результаті дії різноманітних факторів навколишнього середовища,

зокрема іонізуючої радіації, характер розподілення змінюється, і його вже не можна назвати нормальним. Можна зробити припущення, що стрибки ШРЦ пов'язані з переходом більшості клітин в новий стаціонарний стан, який встановлюється шляхом переміщення певних структурних елементів.

Що стосується впливу більш високих доз іонізуючої радіації на швидкість руху цитоплазми, то тут ми можемо бачити наступні закономірності. Вплив опромінення в дозах 700 та 2300 Гр (рис. 1, в) проявлявся у загальному зниженні швидкості руху цитоплазми. При цьому ми спостерігали незначні коливання ШРЦ в межах 10 %, а в цілому криві залежності від часу мали майже лінійний характер. Інша картина променевого ураження клітини мала місце при дозах 3370 та 4300 Гр, коли після зниження ШРЦ протягом 3 год на 180-й хвилині після опромінення спостерігалася тенденція до підвищення швидкості руху цитоплазми і на 300-ту хвилину опромінення значення швидкості руху наближалося до контрольного ва-

ріанта (рис. 1, з). Якщо брати до уваги той факт, що внаслідок радіаційного впливу на клітину знижується забезпеченість клітини АТФ та виникають порушення функціонування мітохондріальної системи біотрансформації енергії [14], не виключено, що це може відбиватися на ШРЦ [13]. Зниження ШРЦ в такому випадку можна розглядати як наслідок зниження окислювального фосфорилування та перехід на більш примітивний гліколітичний тип енергозабезпечення.

За рівнем значущості найбільший ефект дії іонізуючої радіації спостерігався на 120-й хвилині. Можливо це пов'язано з тим, що саме в цей етап пострадіаційного періоду в цитоплазмі відбуваються процеси, пов'язані зі зміною проникності мембран і іонного дисбалансу. Можна припустити, що є дискретні стаціонарні стани клітини, яким властиві свої швидкості руху цитоплазми і свій відповідний рівень швидкості відновлення інфраструктури клітини. Внаслідок радіаційного ураження радіаційно-хімічні перетворення поступово охоплюють різні сторони обміну речовин. В клітині постійно відбувається перенесення мембранного матеріалу зі структур ендоплазматичного ретикулула в плазматичні мембрани та продуктів окислення із мембрани в цитозоль (так званий мембранний потік). Цілком можливо, що прискорення ШРЦ, яке спостерігається в дозах до 100 Гр на 120-ту хвилину після опромінення пов'язано з посиленням транспорту речовин для ліквідації радіаційних пошкоджень. В опроміненій клітині починаються «розпади» ендоплазматичного ретикулула та інших утворень, у зв'язку з чим потрібна прискорена доставка відповідних компонентів зборки, і таким чином коливання швидкості руху цитоплазми — це спроба відновити втрачений гомеостаз після дії радіаційного фактора.

Оскільки, як відомо, Ca^{2+} бере участь у регулюванні численних фундаментальних клітинних процесів, які проявляються в тому числі і в русі цитоплазми [16–19], що показано на різних об'єктах, тому саме з посиленням активного і пасивного Ca^{2+} обміну можна пов'язати зниження відносної ШРЦ, яке спостерігається після гамма-опромінення. По-перше, гіперкальцінація викликає порушення взаємодії актину та міозину, яка, як відомо, ле-

жить в основі руху хлоропластів [3, 20, 21]. По-друге, перехід мітохондрій в стан активного відкачування іонів Ca^{2+} супроводжується втраченою здатністю виробляти АТФ, необхідний для забезпечення руху цитоплазми.

Деактивація диференційованих клітин *Elodea canadensis* може стати наслідком ушкодження цитоскелета, який в цьому разі виконує роль мішені. Справа в тому, що, з одного боку, завдяки своєму великому загальному об'єму цитоскелет складає достатньо велику структуру в клітині і тому цілком вірогідно, що саме він стане мішенню, а з іншого боку, складові частинки цитоскелета синтезуються і у разі безперервного впливу радіації на цитоскелет і пошкодження його субодиниць вмикаються механізми відновлення системи синтезу субодиниць та їх складання в цитоскелет [21]. В наших експериментах можливо саме уповільнення синтезу субодиниць цитоскелета та порушення механізму його самозбирання може викликати зниження відносної швидкості руху порівняно з контролем.

Як відомо, для визначення дії будь-якого радіомодифікатора треба з'ясувати конкретні механізми його впливу [22]. Оскільки кінцевою метою нашої роботи було довести дію електромагнітного випромінювання низької інтенсивності в діапазоні надвисоких частот як фактора, що модифікує променеве ураження рослин, ми повинні були дослідити, яким чином цей фактор сам по собі впливає на швидкість руху цитоплазми і зробити спробу розкрити механізми цієї дії.

Досліджуючи поведінку ШРЦ після впливу електромагнітного випромінювання надвисокої частоти низької інтенсивності (ЕМВ НВЧ), ми виявили, що в цитоплазмі клітин *Elodea canadensis* спостерігаються достовірні зміни швидкості руху цитоплазми, які зображені на рис. 2. На відміну від експериментів з дослідження динаміки ШРЦ під впливом гамма-опромінення, де всі основні процеси відбувалися протягом 1 год і тому не мало сенсу робити заміри кожні півгодини спостереження, в даному випадку нам довелося спостерігати за динамікою ШРЦ кожні півгодини. Як бачимо, спочатку спостерігається незначне зниження ШРЦ — відразу після опромінення вона знижується порівняно з контролем. Але потім спостері-

гається тенденція до стимуляції швидкості руху і починаючи з 30-ї до 300-ї хвилини спостереження ця тенденція зберігається, і варіант, що опромінений ЕМВ НВЧ, перевищує контроль. Ми спробуємо пояснити ці результати, спираючись на сучасні гіпотези пояснення впливу електромагнітних випромінювань на біологічні об'єкти. По-перше, потужність випромінювання, що використовувалася в наших експериментах, мізерно мала, тому ми можемо повністю виключити ефект нагріву клітин і, як наслідок, реакцію ШРЦ на температуру. По-друге, як відомо, кванти випромінювання ЕМВ НВЧ на два порядки менше енергії слабких водородних зв'язків і тому значної енергетичної дії викликати ніяк не може, тим більше не може викликати будь-яких порушень в клітині [9]. Таким чином, все свідчить про те, що першопричиною дії електромагнітного випромінювання можуть бути порушення регуляційних систем в клітині, оскільки потужність опромінення, яке генерується апаратурою (якщо провести аналогію з системами, що використовуються в техніці), цілком достатня для формування сигналів управління біологічною системою, енергія яких на декілька порядків менша за енергію системи в цілому.

Як вже згадувалось в матеріалах і методах, в даному експерименті ми використовували генератор ЕМВ НВЧ, випромінювання якого охоплює діапазон частот від 30 по 70 ГГц. Якщо брати до уваги резонансну теорію дії ЕМВ на швидкість руху цитоплазми, можна припускати, що сприймають ці випромінювання багаточастотні резонансні структури, які розташовані в мембранах клітин, а частоти, на які реагує організм — це особисті резонансні частоти цих структур. Але для того, щоб вибрати з усього спектра певні частоти і зафіксувати ефект, який буде зберігатися і після припинення опромінення ЕМВ НВЧ, потрібно, щоб під час опромінення в резонансних структурах відбулися зміни, завдяки яким ці структури почали би генерувати власні коливання. Що може виступати в ролі таких структур? Цілком ймовірно, що ці підструктури складаються з білкових молекул та утворюють конгломерати. В наших експериментах ефект наступав не відразу, а через певний проміжок часу, а саме через півгодини після початку опромінення.

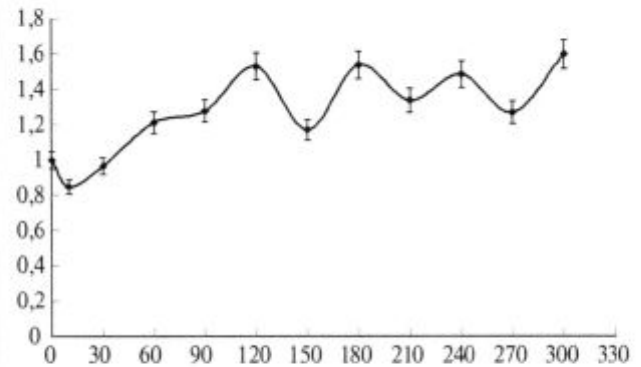


Рис. 2. Динаміка швидкості руху цитоплазми під впливом ЕМВ НВЧ: по вертикалі — ШРЦ, відн. од., по горизонталі — час, хв

Таким чином, ми можемо говорити про поступове формування цих підструктур внаслідок генерації клітинами електромагнітних сигналів в діапазоні надвисоких частот.

Збільшення ШРЦ, яка є АТФ-залежним процесом [2, 3], в наших експериментах може бути пов'язане з підвищенням енергії метаболізму клітини внаслідок стимуляції окислювально-відновлювальних процесів з виділенням енергії, наприклад, з підвищенням інтенсивності дихання, оскільки рухливість внутрішньоклітинних структур є функцією як інтенсивності енергетичних процесів у клітині, так і в'язкості цитоплазми. Починаючи з 120-ї хвилини після опромінення ми можемо спостерігати нелінійні коливальні процеси, які можуть бути пов'язані як з виснаженням та відновленням енергетичних запасів в клітині [5], так і зміною іонного балансу внаслідок зміни проникності мембран [3, 12]. Можливо, чергування зростання і спаду ШРЦ в часі можна пояснити як зміну вже існуючих або ініціювання утворення внутрішньоклітинних осциляцій Ca^{2+} внаслідок конформації білкової структури кальцієвих каналів. Однак необхідно враховувати, що реакція руху цитоплазми на ЕМВ НВЧ дуже складна і потребує систематичного розглядання для встановлення певних закономірностей.

Як відомо, майже всі ефекти впливу ЕМП НВЧ на біологічні об'єкти пов'язують з явищем резонансу [9, 23] або явищем амплітудно-частотних вікон [24]. Ми поставили перед собою питання, чи є показник швидкості руху цитоплазми гостро резонанснозалежним процесом,

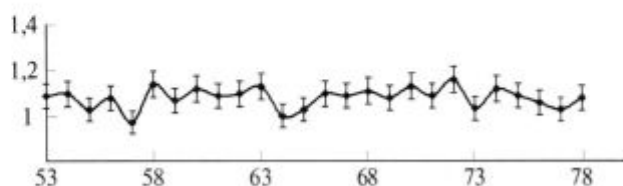


Рис. 3. Вплив різних частот спектра ЕМВ НВЧ на швидкість руху цитоплазми: по вертикалі — ШРЦ, відн. од., по горизонталі — частота ГГц

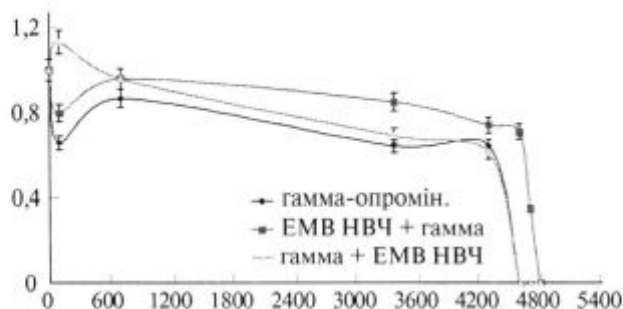


Рис. 4. Дозова залежність швидкості руху цитоплазми при комбінованому впливі ЕМВ НВЧ та іонізуючої радіації: по вертикалі — ШРЦ, відн. од., по горизонталі — доза, Гр

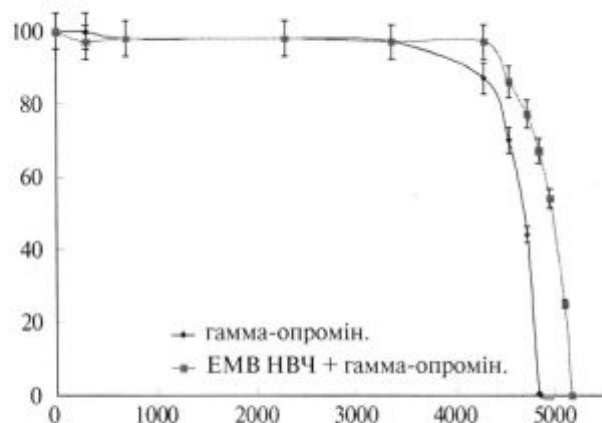


Рис. 5. Крива виживання клітин *Elodea canadensis* при попередньому впливі ЕМВ НВЧ: по вертикалі — ШРЦ, відн. од., по горизонталі — доза, Гр

чи завдяки своїй інтегративності відображення функціонального стану клітини не можна очікувати, що ефект проявиться на якійсь певній частоті спектра. Для дослідження так званого ефекту «резонансу» були проведені дослідження на змінних частотах генератора височастотних випромінювань Г4-142, який працює в частотному діапазоні 53,57+78,33. Серія дослідів довела, що стосовно показника ШРЦ ефект резонансу не спостерігається, тобто немає найбільш

вираженої реакції ШРЦ на певній фіксованій частоті (рис. 3).

Ефект дії модифікатора, як відомо, в значній мірі залежить від послідовності його застосування [22]. Більше того, як видно з літературних даних, від того, буде вплив модифікатора передувати опромінюванню іонізуючою радіацією чи при оберненій послідовності цих двох впливів, ефект може бути прямо протилежним [25]. Ми в своїх експериментах проаналізували обидві послідовності впливу на клітини *Elodea canadensis*, щоб відповісти на запитання, чи може електромагнітне випромінювання надвисокої частоти виступати як модифікатор променевого ураження і якщо може, то при якій послідовності застосування.

На рис. 4 представлені дозові залежності ШРЦ при обох послідовностях застосування модифікатора. На підставі цих даних ми можемо стверджувати, що незалежно від послідовності впливу в діапазоні відносно невисоких доз ЕМВ НВЧ може модифікувати радіобіологічні реакції клітини, які відбуваються на швидкості руху цитоплазми. Можливо, в нашому випадку ми маємо справу з настільки чутливим показником, що навіть мізерні відхилення в функціонуванні клітини відразу відбиваються на ШРЦ. Прояв ефекту при дослідженні ШРЦ в діапазоні екстремально високих доз при використанні модифікатора (рис. 4) практично не залежить від часу після опромінення, але є істотною різниця між варіантом ЕМВ + γ та γ + ЕМВ, оскільки при попередньому впливі ЕМВ НВЧ зупинка руху цитоплазми спостерігається при дозі 4800 Гр, а не при дозі 4600 Гр, як це відбувається у варіанті клітин, опромінених тільки іонізуючою радіацією.

Для відтворення повної картини променевого ураження диференційованих клітин *Elodea canadensis* ми дослідили виживання клітин, опромінених гамма-радіацією. Як вже згадувалося раніше, рух цитоплазми виявився дуже радіостійким процесом і спостерігався при дозах до 4600 Гр. Вищі за цю дозу викликали припинення ротаційного руху хлоропластів у переважній більшості клітин. Дозова крива, яка зображена на рис. 5 і відповідає виживаності клітин *Elodea canadensis*, відразу після опромінення характеризується наявністю «плеча», що в даному випадку віддзеркалює не репара-

ційне відновлення клітини, а лише те, що глибоко диференційовані клітини здатні переносити дуже інтенсивне променеве навантаження. Порівнюючи дозові криві виживання без модифікатора і під впливом ЕМВ НВЧ (рис. 5), ми можемо однозначно говорити про те, що ЕМВ НВЧ може модифікувати променеве ураження. З рис. 5 видно, що загибель клітин при використанні модифікатора спостерігається при дозі 5180 Гр, а не при 4700 Гр, як це відбувається у варіанті без модифікатора.

Профілактична модифікація виживання під впливом ЕМВ НВЧ може бути пов'язана з розгортанням цілого комплексу біохімічних реакцій, індукованих ЕМВ НВЧ. Зокрема, ефект може бути пов'язаний з попередньою можливою конфірмаційною зміною макромолекул, що сприяє зменшенню радіаційних пошкоджень. Можливо, під впливом ЕМВ НВЧ на мембранах клітин починають утворюватися підструктури білкової природи, про які згадувалось раніше, пов'язані з резонансними внутріклітинними структурами. В подальшому частоти, на яких проводилося опромінення, генеруються вже цими підструктурами, і саме вони завдають частоту коливань, що потім генерується клітинами внаслідок цього впливу, і призводять до усунення порушень в клітинах. В наших експериментах у варіантах ЕМВ НВЧ + γ виникнення і початок функціонування цих підструктур відбувається під впливом ЕМВ НВЧ до початку опромінення, і тут ми не можемо говорити про виправлення радіаційно індукованих пошкоджень в клітинах, оскільки їх ще просто не відбулося. Але цілком припустимо, що ЕМВ НВЧ профілактично викликає мобілізацію захисних ресурсів клітини. Під впливом ЕМВ НВЧ можуть змінюватись швидкість дифузійних процесів в цитоплазмі, що в свою чергу відбивається на рекомбінаційних ефектах за участю вільних радикалів, напруженість дихального фосфорилування та інших метаболічних процесів, що може бути пов'язане з прискоренням репарації ДНК та мембран в опромінених клітинах [22]. Окрім того, зміни можуть відноситися до флуктуацій в іонному балансі клітини, що напрямки пов'язано зі швидкістю руху цитоплазми.

Як відомо, для здійснення радіопротекторного ефекту дуже важливим є втручання в пе-

ребіг ланцюгових реакцій на дію опромінення і гальмування пероксидного окислення ліпідів. ЕМВ НВЧ може в даному процесі виступати як чинник антиоксидантної дії, впливаючи на інактивацію вільних радикалів ліпідів. Окрім того, в клітинах відбувається прискорення репарації структури мембран, а оскільки відомо, що репарація мембран залежить від біоенергетичних і біосинтетичних процесів, що відбуваються в цитоплазмі, цілком вірогідно, що ЕМВ НВЧ викликає прискорення клітинного метаболізму, діючи на біосинтез білків та ліпідів, і це також відбивається не тільки на ШРЦ, а і на збільшенні виживання диференційованих клітин *Elodea canadensis*, опромінених електромагнітним випромінюванням.

Узагальнюючи експериментальний матеріал та посилаючись на літературні джерела [9], ми можемо сказати, що ЕМВ НВЧ виступає як регулюючий фактор, який готує організм до подальших несприятливих впливів (в даному разі іонізуючої радіації) і є радіопротекторним модифікатором променевого ураження, причому його ефективність за критерієм виживання показана в діапазоні екстремально високих доз.

В сучасній науковій літературі майже відсутні дані про те, що на розвиток синдромів променевого ураження впливає не тільки ушкодження проліферативних клітин, але і реакція диференційованих клітин. Дослідити цю реакцію, а також модифікацію радіобіологічних характеристик за допомогою дії інших фізичних факторів можливо тільки застосовуючи інтегративні показники фізіологічного стану клітини, яким є швидкість руху цитоплазми.

Ми зіткнулись з проблемою, що радіобіологічні характеристики руху цитоплазми майже не досліджені. Той факт, що подібні свідчення не висвітлювались в літературі, може мати наступні пояснення. По-перше, як вже згадувалось, швидкість руху цитоплазми є дуже радіостійким процесом, незважаючи на чутливість цього показника до дії фізичних факторів, а реакція швидкості руху цитоплазми, особливо в діапазоні відносно невисоких доз (до 100 Гр), досить неоднозначна. Розвиток радіобіологічної реакції в часі також досить складний. Теж саме відноситься до дії ЕМВ НВЧ на рух цитоплазми, але всі літературні дані, які стосуються вивчення ЕМВ НВЧ на клітину, свідчать, що

на швидкості руху цитоплазми обов'язково повинні відбиватися зміни всіх процесів, які може модифікувати ЕМВ НВЧ (зміни проникності клітинних мембран, перерозподіл іонів, підвищення метаболічної активності, кальцієва сигнальна регуляція та ін). Тобто, це універсальна модель для дослідження впливу ЕМВ НВЧ. Але в літературі ми не знайшли експериментальних даних, які стосуються цього питання. Більше того, накладання електромагнітного впливу низької інтенсивності на радіаційний фактор на прикладі ШРЦ є зовсім недослідженою проблемою і потребує відповіді на багато запитань, перш ніж будуть виявлені певні закономірності. По-друге, для того щоб можна було говорити про коректність даного експерименту, необхідно було робити дуже велику експериментальну вибірку. Перевагою запропонованою нами моделі без сумніву є те, що швидкість руху цитоплазми виявилася дуже чутливою як по відношенню до дії ЕМВ НВЧ, так і радіаційного фактора. Це виражалося у виникненні нелінійних коливань ШРЦ, які мають достатньо складну характеристику і відсутні за нормальних умов. При вивченні сумісної дії іонізуючої радіації та гамма-випромінювання нам довелося окремо аналізувати ділянки дозових залежностей і пропонувати різні механізми впливу на цих ділянках.

Підсумовуючи одержаний нами експериментальний матеріал, ми можемо стверджувати, що електромагнітне випромінювання низької інтенсивності в діапазоні надвисоких частот модифікує реакцію диференційованих рослинних клітин на радіаційне ураження як за критерієм швидкості руху цитоплазми, так і за критерієм виживання. ШРЦ може бути критерієм для визначення модифікувального впливу ЕМВ НВЧ, але аналіз дозової залежності в діапазоні відносно невисоких доз свідчить про те, що в даному процесі задіяні дуже тонкі механізми впливу модифікатора, і тому це потребує додаткових детальних досліджень для того, щоб з'ясувати, що означають нелінійні коливання ШРЦ. В діапазоні екстремально високих доз можна однозначно говорити про радіопротекторну модифікацію променевого ураження.

Цінністю запропонованої нами моделі швидкості руху цитоплазми, на нашу думку, є той

факт, що на більшості моделях, які використовувалися дослідниками раніше, не можна було дослідити ефекти, спричинені ЕМВ НВЧ, при відсутності порушень або відхилень від норми параметра, що контролювався. В наших експериментах ЕМВ НВЧ викликало достовірні зміни цього показника, як і у випадку впливу іонізуючого випромінювання, що, можливо, обумовлено високою чутливістю цього показника до даного роду впливів. Реакція ШРЦ на вплив як іонізуючої, так і неіонізуючої радіації дуже складна і потребує систематичного розглядання.

Ми зробили спробу проаналізувати зміни радіобіологічних характеристик диференційованих клітин під дією ЕМВ НВЧ, використовуючи цитофізіологічний метод вивчення швидкості руху цитоплазми. Наступні дослідження дадуть змогу більш детально дослідити механізми комбінованого впливу ЕМВ НВЧ та іонізуючої радіації на клітину. Це важливо для розуміння того, що можна очікувати від поєднання впливів цих двох антропогенних чинників.

SUMMARY. Estimation of influence of ionizing radiation, high-frequency electromagnetic radiation and their combined action on a higher water plant *Eloдея canadensis* has been carried out using cytophysiological method of determination of the cytoplasm streaming rate. It was shown that low-intensive electromagnetic radiation modifies reaction of the differentiated cells on radiolesion. The rate of cytoplasm streaming can be used as an informative characteristic of plant cell state in radiobiological experiment.

РЕЗЮМЕ. С помощью цитофизиологического метода определения скорости движения цитоплазмы проведена оценка влияния ионизирующей радиации, электромагнитного излучения (ЭМИ) сверхвысокой частоты и их комбинированного влияния на дифференцированные клетки высшего водного растения *Eloдея canadensis*. Установлено, что ЭМИ низкой интенсивности модифицирует реакцию дифференцированных клеток на радиационное поражение. Показано, что скорость движения цитоплазмы может использоваться как информативный показатель состояния растительной клетки в условиях радиобиологического эксперимента.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин : Підручник. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 392 с.
2. Камия Н. Движение протоплазмы. — М.: Изд-во иностр. лит., 1962. — 306 с.

3. *Kamiya N.* Physical and chemical basis of cytoplasmic streaming // *Ann. Rev. Plant. Physiol.* — 1981. — 32. — P. 205–236.
4. *Ониани Д.А.* Физико-химические механизмы регуляции циклозиса растительной клетки : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Тбилиси, 1987. — 35 с.
5. *Смирнова Н.Н., Сиренко Л.А.* Цитофизиологический метод экспресс-оценки токсичности природных вод // *Гидробиол. журн.* — 1993. — 29, № 4. — С. 95–99.
6. *Staiger C.J., Yuan M., Valenta R. et al.* Microinjected profilin affects cytoplasmic streaming in plant cells by rapidly depolymerizing actin microfilaments // *Curr. Biol.* — 1994. — 4. — P. 215–219.
7. *Eun S.O., Lee Y.* Stomatal opening by fusicoccin is accompanied by depolymerization of actin filaments in guard cells // *Planta*. — 2000. — 210. — P. 1014–1017.
8. *Штрюггер З.* Практикум по физиологии растительных клеток и тканей. — М.: Изд-во иностр. лит., 1953. — 279 с.
9. *Девятков Н.Д., Голант М.Б., Тагер А.С.* Роль синхронизации в воздействии слабых электромагнитных сигналов миллиметрового диапазона волн на живые организмы // *Биофизика*. — 1983. — 28, вып. 5. — С. 895–896.
10. *Tordiya N.V., Grodzinsky D.M., Sytnik S.V.* The effect of plant cells irradiation by low intensive electromagnetic waves // 11th Nordic-Baltic Conf. on Biomed. Engineering. — Tallinn, 1999. — P. 237–238.
11. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. — М., 1984. — 271 с.
12. *Kadota A., Wada M.* Photoinduction of circular F-actin on chloroplast in a tern protonemal cell // *Protoplasma*. — 1989. — 151. — P. 171–174.
13. *Тордія Н.В., Гродзінський Д.М., Ситнік С.В.* Вплив електромагнітного випромінювання низької інтенсивності в діапазоні надвисоких частот на рух цитоплазми диференційованих рослинних клітин // *Фізика живого*. — 1999. — 7, № 1. — С. 43–47.
14. *Руднев М.И., Варецкий В.В., Береговская Н.Н.* Влияние низких доз ионизирующей радиации и других факторов окружающей среды на организм. — К.: Наук. думка, 1994. — 216 с.
15. *Yokota E., Hibara K., Imamichi N. et al.* Possible involvement of protein phosphorylation in the regulation of cytoplasmic organization and streaming in root hair cells as revealed by a protein phosphatase inhibitor, calyculin A // *Protoplasma*. — 2000. — 211, №1. — P. 245–251.
16. *Smith D.A., Saldana R.P.* A model calcium oscillator for cell motility in the slime-mould *Physarum polycephalum* // *Proc. Austral. Physiol. and Pharmacol. Soc.* — 1992. — № 1. — P. 89.
17. *Beluav I.Y., Alipov Y.D., Sitko S.P.* Abstract book of the World Congr. for Electr. and Magn. in Biol. and Med. — Florida, USA, 1992. — P. 111.
18. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука, 2002. — 294 с.
19. *Trewavas A.J., Malho R.* Ca²⁺-signaling in plant cells: the big network // *Curr. Plant Biol.* — 1998. — 1. — P. 428–433.
20. *Kost B., Spielhofer P., Chua N.H.* A GFP-mouse talin fusion protein labels plant actin filaments in vivo and visualizes the actin cytoskeleton in growing pollen tubes // *Plant J.* — 1998. — 16. — P. 393–401.
21. *Douglas G. Muench R., Mullen T.* Peroxisome dynamics in plant cells: a role for the cytoskeleton // *Plant Sci.* — 2003. — 164, № 3. — P. 307–315.
22. *Гродзінський Д.М.* Радиобіологія : Підручник. — К.: Либідь, 2000. — 448 с.
23. *Сітько С.П., Білий М.У., Андреев Є.О.* Проявлення власних характеристичних частот організму людини // *Доп. АН УРСР. Сер. Б.* — 1985. — № 10. — С. 56–59.
24. *Григорьев Ю.Г.* О пленуме (круглом столе) научного совета РАН по радиобиологии : Радиобиология на пороге XXI века // *Радиационная биология. Радиозэкология*. — 1999. — 39, № 5. — С. 588–591.
25. *Севастьянова Л.А., Потапов С.П.* Изменение характера кроветворения при действии СВЧ-миллиметрового диапазона в комбинации с рентгеновским излучением или противоопухолевыми препаратами // *Радиочувствительность и лучевая терапия опухолей*. — Л.: Медицина, 1976. — С. 36–38.

Надійшла 07.08.03