

УДК 575. 224. 46:773.4

<http://orcid.org/0000-0002-6188-9937>

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВУ АДАПТИВНОЇ ВІДПОВІДІ У ЕУКАРІОТІВ ПРИ ДІЇ МАЛИХ ПОТУЖНОСТЕЙ НЕІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Стрижельчик Н.Г., к.б.н.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Проведено дослідження модифікуючих можливостей лазерного випромінювання. В дослідках на статевих клітинах дрозофіли виявлено здатність лазерного випромінювання малої потужності (2 мВт) у формі попередньої обробки проявляти модифікуючі властивості щодо негативного ефекту лазерного випромінювання вищої потужності (5 мВт), а саме індукувати адаптивну відповідь. Показано залежність цього процесу від потужності, та від послідовності впливу.

Ключові слова: лазерне випромінювання, модифікуючі можливості, потужність, попередня обробка, статеві клітини, адаптивна відповідь.

The particular manifestation of adaptive response in eucariotes when influenced by non-ionizing radiation of low power. Stryzhelchik N.G. – The modifying possibilities of laser radiation have been investigated. In experiments with drosophila germ cells, a preliminary treatment with low power (2mW) laser radiation was shown to exert a modifying effect on negative results of higher power (5mW) radiation, inducing an adaptive response. The dependence of this phenomenon on the radiation power and the treatment sequence has been demonstrated.

Key words: laser radiation, modifying possibilities, power, preliminary

ВСТУП

Широке запровадження до всіх сфер життєдіяльності людини неіонізуючих видів випромінювання, створює нову загрозу сумісної дії різних фізичних та фізичних і хімічних факторів. Наприклад, альтернативним методом лікування різноманітних захворювань людини стала “фотомедицина”.

Відомим фактом є те, що попередня слабка дія стресових факторів підвищує резистентність про- та еукаріотичних клітин відносно ефектів біологічно значущих доз. Це явище відкрито в 1977 році і отримало назву адаптивної відповіді [1].

Адаптивна відповідь полягає в підвищенні резистентності клітин після впливу різних агентів у малих дозах відносно наступного впливу тих самих (або інших) стресових агентів у високих дозах. В теперішній час з’являється все більше відомостей щодо адаптивної відповіді на дію різноманітних факторів як хімічної, так і фізичної природи, а також перехресної адаптації, викликані одними агентами проти інших [2].

Сьогодні вже отримано багато даних, які впливають на індукцію адаптивної відповіді, що свідчить про запуск цілого каскаду подій, здатних викликати наступну резистентність до впливу агентів у високих дозах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на *Drosophila melanogaster* лінії дикого типу Canton-S. Модифікатором індукованого мутагенезу слугувало червоне лазерне випромінювання з довжиною хвилі 655 нм.

Культуру дрозофіли розміщували на живильному середовищі. Впливу лазерного випромінювання підлягали личинки, що вийшли з відкладених яєць. Експозиція тривала 30 хвилин. Дослідження проводили у декількох варіантах дослідів. У першому варіанті досліджень личинки опромінювали лазерним випромінюванням потужністю 2 мВт. У другому варіанті дослідів личинки опромінювали лазерним випромінюванням потужністю 5 мВт. У третьому варіанті дослідів личинок послідовно опромінювали спочатку випромінюванням малої потужності (2 мВт 30 хвилин), потім після перерви (30 хвилин), личинки ще раз обробляли лазерним випромінюванням вищої потужності (5 мВт). У четвертому варіанті дослідів навпаки личинки спочатку опромінювали лазерним випромінюванням потужністю 5 мВт, а потім потужністю 2 мВт.

Аналізували самців (вирощених за вище вказаних умов), яких схрещували з інтактними віргінними самками цієї ж лінії дрозофіли. Модифікуючі властивості лазерного випромінювання оцінювали за частотою індукованих доміантних летальних мутацій у зародкових клітинах дрозофіли. Облік доміантних летальних мутацій проводили на постембріональній стадії онтогенезу дрозофіли за показниками постембріональних втрат [2, 3, 4]. Мінливість адаптивних ознак оцінювали за показниками плодючості за кількістю лялечок й імаго [4]. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою критерію χ^2 та Стьюдента t [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Завданням цих досліджень є вивчення особливостей ефектів впливу лазерного випромінювання малої потужності (2 мВт) на біологічні ефекти вищої потужності (5 мВт).

У цьому варіанті дослідів частота доміантних летальних мутацій у контролі становила $6,1 \pm 0,69$ %. Рівень адаптивних ознак за показниками плодючості дорівнював: за кількістю лялечок – $60,1 \pm 3,4$; за кількістю імаго – $56,4 \pm 3,0$.

Після опромінення личинок випромінюванням потужністю 2 мВт частота доміантних летальних мутацій становила $5,7 \pm 0,68$ % (перший варіант дослідів). У другому варіанті дослідів після опромінення личинок випромінюванням потужністю 5 мВт частота доміантних летальних мутацій становила $7,6 \pm 2,0$ %

Опромінення личинок послідовно лазерним випромінюванням різної потужності (спочатку потужністю 2 мВт, а потім потужністю 5 мВт) давало незначний, але позитивного ефект. Частота домінуючих летальних мутацій у цьому варіанті дослідів була на 11,4 % нижчою, ніж у контролі, що становило $5,4 \pm 0,97$ %. Проте статистично значущої різниці порівняно з контролем встановлено не було ($\chi^2 = 0,38$; $p > 0,05$).

Порівняльний статистичний аналіз даних, одержаних у першому та третьому варіантах експериментів, а саме після опромінення личинок окремо потужністю 2 мВт, із результатами послідовного опромінювання спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт не виявив достовірної різниці між цими варіантами дослідів ($\chi^2 = 0,16$; $p > 0,05$).

Проте порівняння результатів, одержаних у другому і третьому варіантах дослідів, а саме після опромінення личинок окремо лазерним випромінюванням потужністю 5 мВт із даними послідовного опромінювання личинок продемонструвало статистично значущу різницю. Частота домінуючих летальних мутацій була достовірно нижчою в разі послідовного опромінення спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт, ніж окремо потужністю 5 мВт ($\chi^2 = 6,6$; $p < 0,01$).

У цій серії експериментів за умов послідовного опромінення личинок різними потужностями встановлено позитивний вплив на рівень адаптивних ознак за показниками плодючості дрозофіли, які статистично значуще перевищували контрольний рівень: за кількістю лялечок на 78,3 %, що становило $107,2 \pm 5,8$ ($t_1 = 7,0$; $p < 0,01$); за кількістю імаго на 79,7 % — $101,4 \pm 5,4$ ($t_2 = 7,3$; $p < 0,01$).

Статистичний аналіз даних, одержаних у першому і третьому варіантах дослідів у разі опромінення личинок окремо потужністю 2 мВт чи послідовного опромінення спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт, не виявив достовірної різниці між ними як за кількістю лялечок ($t_1 = 0,95$; $p > 0,05$), так і кількістю імаго ($t_2 = 0,66$; $p > 0,05$) (рис. 1).

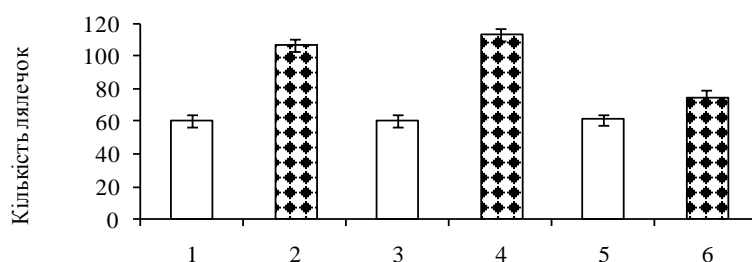


Рис. 1. Вплив лазерного випромінювання різних потужностей послідовно (спочатку потужності 2 мВт, а потім 5 мВт) на рівень показників плодючості за кількістю лялечок у *Drosophila melanogaster* (опромінення личинок). На осі ординат: кількість лялечок. На осі абсцис: 1 — контроль; 2 — послідовне опромінення личинок спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт; 3 — контроль; 4 — опромінення потужністю 2 мВт; 5 — контроль; 6 — опромінення потужністю 5 мВт

Водночас порівняльний аналіз даних, отриманих у другому і третьому варіантах дослідів, довів статистично значущу різницю за рівнем адаптивних ознак, який виявився достовірно вищим у разі послідовного опромінення личинок спочатку потужністю 2 мВт, а потім потужністю 5 мВт, ніж окремо потужністю 5 мВт як за кількістю лялечок ($t_1 = 9,5; p < 0,01$), так і кількістю імаго ($t_2 = 5,4; p < 0,01$).

Завданням послідуєчих експериментів було вивчення особливостей ефектів впливу лазерного випромінювання вищої потужності (5 мВт) на біологічні ефекти меншої потужності (2 мВт). Одержані дані наведено на рис. 2.

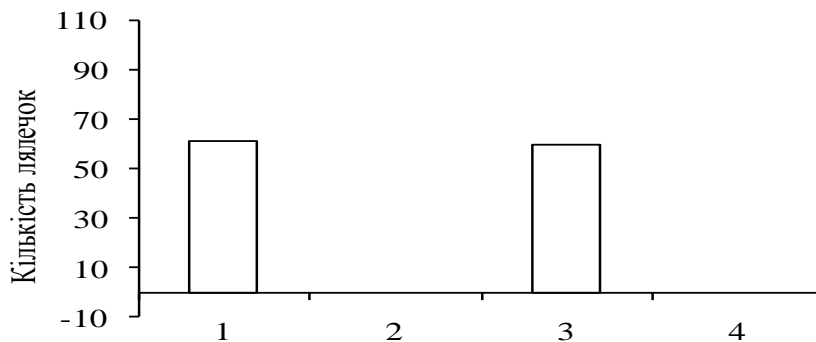


Рис. 2. Вплив лазерного випромінювання різних потужностей послідовно (спочатку потужності 5 мВт, а потім 2 мВт) на рівень показників плодючості за кількістю лялечок у *Drosophila melanogaster* (опромінення личинок). На осі ординат: кількість лялечок. На осі абсцис: 1 – контроль; 2 – послідовне опромінення личинок спочатку потужністю 5 мВт, а потім 2 мВт; 3 – контроль; 4 – послідовне опромінення личинок спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт

У цьому варіанті дослідів частота доміантних летальних мутацій у контролі становила $6,2 \pm 1,8$ %. Рівень адаптивних ознак за показниками плодючості дорівнював: за кількістю лялечок – $61,0 \pm 4,5$; за кількістю імаго – $57,1 \pm 3,6$.

Послідовне опромінення личинок лазерним випромінюванням різної потужності (спочатку потужністю 5 мВт, а потім потужністю 2 мВт) не давало позитивного ефекту. Частота доміантних летальних мутацій у цьому варіанті дослідів була на 12,7 % вищою ніж у контролі, що становило $7,9 \pm 0,63$ %. Однак статистично значущої різниці порівняно з контролем встановлено не було ($\chi^2 = 1,59; p > 0,05$).

Порівняльний статистичний аналіз даних, одержаних у першому і четвертому варіантах, а саме після опромінення личинок окремо потужністю 2 мВт, із результатами послідовного опромінення спочатку потужністю 5 мВт, а потім 2 мВт виявив статистично значущу різницю між цими варіантами дослідів ($\chi^2 = 4,19; p < 0,01$).

Проте аналіз результатів, одержаних у другому третьому і четвертому варіантах дослідів, не продемонстрував достовірної різниці між ними. Частота доміантних летальних мутацій достовірно не відрізнялась у разі послідовного

впливу спочатку потужності 5 мВт, а потім 2 мВт, порівняно з впливом окремо потужності 5 мВт ($\chi^2 = 0,07$; $p > 0,05$).

Слід зазначити, що порівняння даних, одержаних у третьому і четвертому варіантах дослідів у разі послідовного опромінення личинок спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт, із результатами цього експерименту, а саме послідовного опромінення личинок навпаки спочатку потужністю 5 мВт, а потім потужністю 2 мВт, виявило статистично значущу різницю між ними ($\chi^2 = 4,75$; $p < 0,05$). Частота доміантних летальних мутацій була нижчою в разі послідовного опромінення личинок віком 48 годин спочатку потужністю 2 мВт, а потім 5 мВт.

У цій серії експериментів за умов послідовного опромінення личинок різними потужностями спочатку потужністю 5 мВт, а потім 2 мВт практично не встановлено позитивного ефекту за рівнем адаптивних ознак. Не виявлено статистично значущого підвищення показників плодючості дрозофіли як за кількістю лялечок, що становило $74,0 \pm 4,0$ ($t_1 = 2,16$; $p > 0,05$), так і кількістю імаго (на 19 %), що становило $68,1 \pm 3,7$ ($t_2 = 2,15$; $p > 0,05$).

Проте статистичний аналіз даних, одержаних у першому і четвертому варіантах дослідів у разі опромінення окремо потужністю 2 мВт чи послідовного опромінення (спочатку потужністю 5 мВт, а потім 2 мВт) виявив достовірну різницю між ними і за кількістю лялечок ($t_1=7,7$; $p<0,05$) і за кількістю імаго ($t_2 = 5,2$; $p < 0,05$).

Водночас порівняльний аналіз даних, одержаних у четвертому і другому варіантах дослідів у разі послідовного опромінення личинок спочатку потужністю 5 мВт, а потім потужністю 2 мВт, чи окремо потужністю 5 мВт, не встановив статистично значущої різниці за рівнем адаптивних ознак як за кількістю лялечок ($t_1 = 0,24$; $p > 0,05$), так і кількістю імаго ($t_2 > 0,29$; $p > 0,05$).

ВИСНОВКИ

Матеріали досліджень потенційних модифікуючих можливостей лазерного випромінювання свідчать, що попередня обробка личинок лазерним випромінюванням меншої потужності (2 мВт) позитивно впливає на рівень адаптивних ознак та мутагенезу в статевих клітинах дрозофіли, зокрема знижує частоту доміантних летальних мутацій та спричиняє достовірне підвищення рівня адаптивних ознак за показниками плодючості. Таким чином, одержані результати вказують на здатність лазерного випромінювання малої потужності (у формі попередньої обробки) проявляти модифікуючі властивості щодо негативного ефекту лазерного випромінювання вищої потужності, а саме індукувати адаптивну відповідь. Показано залежність цього процесу від потужності та від послідовності впливу. Використання лазерного випромінювання меншої потужності (2 мВт) після вищої потужності (5 мВт) не давало позитивного ефекту – не індукувало статистично значущого зниження частоти доміантних летальних мутацій та не спричиняло достовірного підвищення рівня адаптивних ознак.

Література

1. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин – М. : Наука, 1990. – С. 128–131.
2. Патент України на корисну модель № 78836 МПК G01N 33/554 (2006.01) Спосіб визначення мутагенної активності ксенобіотиків на *Drosophila melanogaster* / Стрижельчик Н.Г., Яковлева Л.В.; заявник та патентовласник Нац. фарм. ун-т. – и 2012 04917; заявл. 19.04.2012; опубл. 10.04.2013, Бюл. № 7.
3. Патент України на корисну модель № 76804, МПК G01N 33/554 (2006.01) Спосіб визначення показників плодючості *Drosophila melanogaster* в умовах спонтанного та хімічно індукованого мутагенезу / Стрижельчик Н.Г., Воробйова Л.І.; заявник та патентовласник Харків. нац. ун-т ім. В.Н. Каразіна. – и 2012 09545; заяв. 06.08.2012; опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1.
4. Тихомирова М.М. Генетический анализ / М.М. Тихомирова – Л.: Из-во ЛГУ, 1990. – С. 270–271.
5. Samson L. A new pathway for DNA repair in Escherichia coli / L. Samson, J. Cairns // Nature (London). – 1977. – 267. – P. 281–283.
6. Wang Z.Q. Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays / Z.Q. Wang, S. Saigusa, M. S. Sasaki // Mutat. Res. – 1999. – 246. – P. 179–186.

Особенности проявления адаптивного ответа у эукариотов при действии малых мощностей неионизирующего излучения. Стрижельчик Н.Г. Проведены исследования модифицирующих возможностей лазерного излучения. В исследованиях на половых клетках дрозофилы выявлена способность лазерного излучения малой мощности (2 мВт) в форме предварительной обработки проявлять модифицирующие свойства в отношении отрицательного эффекта более высокой мощности (5 мВт), а именно – индуцировать адаптивный ответ. Показана зависимость этого процесса, как от мощности, так и от последовательности влияния.

Ключевые слова: лазерное излучение, модифицирующие возможности, мощность, предварительная обработка, половые клетки, адаптивный ответ.