

## МОДИФИЦИРОВАНИЕ ИМПУЛЬСНЫМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ ИНДУЦИРУЕМЫХ СВИНЦОМ ЧАСТОТ МИКРОЯДЕР В ЭРИТРОЦИТАХ ЛИЧИНОК БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ

©2000 г. В. И. Крюков

НИИ новых медицинских технологий МЗ

РФ 300026 Тула, пр. Ленина, 108.

Поступила в редакцию 06.04.99 г.

*Ключевые слова:* амфибии, микроядерный тест, свинец, электромагнитное поле.

В результате техногенного загрязнения окружающей среды во многих экосистемах происходит интенсивное накопление тяжёлых металлов, одним из которых является свинец. Антропогенными источниками загрязнения свинцом служат промышленные и бытовые стоки, газообразные выбросы и пыль теплоэлектростанций, металлургических, металлообрабатывающих, химических и иных промышленных предприятий, а также автомобильный транспорт, работающий на этилолированном бензине. На некоторых промышленных предприятиях (типографии, цветная металлургия, производство аккумуляторов, стекла) содержащие свинец аэрозоли могут быть причиной его ингаляционного поступления в организм. Вместе с тем рабочие переселенных и многих других промышленных предприятий, обслуживая электрооборудование, подвергаются воздействию электромагнитных полей различных частот. Аналогичному сочетанному воздействию тяжёлых металлов и электромагнитных полей могут подвергаться сельскохозяйственные и дикие животные, обитающие в экосистемах, подверженных загрязнению тяжёлыми металлами и воздействию электромагнитных полей от промышленных установок различного назначения. В связи с этим представляет интерес реакция организмов на одновременное воздействие различных доз свинца и низкочастотного импульсного магнитного поля.

В данной работе представлен анализ влияния импульсного электромагнитного поля на частоту микроядер (МЯ) в эритроцитах периферической крови головастиков, индуцируемую различными концентрациями свинца.

Задачей эксперимента являлось выяснение мутагенности различных концентраций свинца и его сочетанного воздействия с низкочастотным импульсным электромагнитным полем (ИМП). Источником ИМП служила модельная импульсная магнитная установка ИМУ-1, разработанная

и сконструированная в лаборатории медицинской СВЧ и КВЧ аппаратуры нашего института. Установка позволяет получать в полости индуктора электромагнитное поле, среднюю величину магнитной индукции которого можно ступенчато изменять от 1.2 до 41.0 мТл при длительности импульса по уровню 0.1 от 3 до 20 мс. Частоту повторения импульсов можно плавно варьировать в пределах 2-16 Гц.

Материалом для исследования служили личинки зелёной жабы (*Bufo viridis*), отловленные во временном искусственном водоеме на 46-й и 47-й стадиях развития согласно классификации, предложенной Н.В. Дабагяном и Л.А. Слепцовой (1975). Личинки были разделены на 18 групп по 7 экз. в каждой. Первая группа служила контролем. Личинок 2-9-й групп на 6 ч помещали в раствор азотнокислого свинца с конечной концентрацией  $Pb^{+2}$  0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.4, 2.8 и 5.6 мг/л соответственно. Выбор концентраций обусловлен тем, что промышленные и дождевые городские стоки, попадающие в водоёмы, могут содержать свинец до 7-8.5 мг/л (Саег, 1987). Для анализа влияния на индукцию микроядер ИМП личинок 10-18-й групп в сосудах с чистой водой и исследуемыми растворами  $Pb^{+2}$  помещали на 6 ч в полость индуктора. Опыт выполнен при величине индукции 41.0 мТл и частоте импульсов 16 Гц. Выбор величины индукции был обусловлен отсутствием у нас каких-либо данных о кластогенном эффекте низкочастотных электромагнитных полей на клетки амфибий. Для его обнаружения была использована максимальная, генерируемая прибором, величина электромагнитной индукции. Индуктор во время опыта принудительно вентилировали во избежание нагрева сосудов с животными. После окончания 6-часового воздействия исследуемых факторов головастиков всех вариантов опыта переносили в чистую воду на 24 ч для реализации структурных нарушений в клетках. По истечении

Таблица 1. Количество и частоты микроядер в эритроцитах периферической крови личинок *Bufo viridis*, индуцированные 6-часовым воздействием различных концентраций свинца и ИМП

Вариант опыта	Концентрация Pb <sup>2+</sup> , мг/л	Всего клеток	Клеток с микроядрами		P	
			количество	частота, $p \pm \tau\sigma_p$ %	с контролем	с вариантом без ИМП
Контроль		10041	41	0.41 ± 0.12		
Без ИМП	0.2	10048	48	0.48 ± 0.13	>0.05	-
	0.4	10052	52	0.52 ± 0.14	>0.05	-
	0.6	10054	54	0.54 ± 0.14	>0.05	-
	0.8	10061	61	0.61 ± 0.15	>0.05	-
	1.0	10072	72	0.71 ± 0.16	<0.001	-
	1.4	10073	73	0.72 ± 0.17	<0.01	-
	2.8	10096	96	0.95 ± 0.19	<0.01	-
	5.6	10139	139	1.37 ± 0.23	<0.01	-
С ИМП	0	10054	54	0.54 ± 0.14	>0.05	>0.05
	0.2	10058	58	0.58 ± 0.15	>0.05	>0.05
	0.4	10053	53	0.53 ± 0.14	>0.05	>0.05
	0.6	10060	60	0.60 ± 0.15	>0.05	>0.05
	0.8	10063	63	0.63 ± 0.15	<0.05	>0.05
	1.0	10071	71	0.70 ± 0.16	<0.01	>0.05
	1.4	10098	98	0.97 ± 0.19	<0.001	>0.05
	2.8	10129	129	1.27 ± 0.22	<0.001	<0.05
	5.6	10182	182	1.79 ± 0.26	<0.001	<0.05

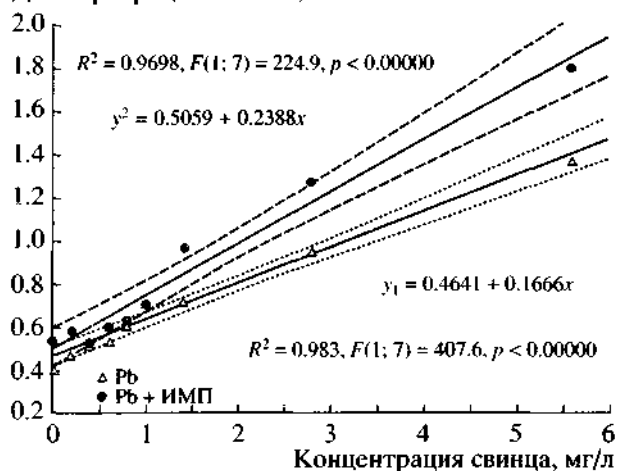
указанного времени у пяти случайно выбранных в каждой группе личинок отсекали заднюю треть хвостового плавника и делали мазки крови. После высушивания препараты окрашивали азур-эозином по Романовскому. На окрашенных препаратах анализировали по 2 тыс. нормальных эритроцитов от каждого животного, фиксируя при этом (дополнительно к количеству нормальных эритроцитов) число клеток с МЯ. Учитывали все типы МЯ, описанные Л.Ю. Жулевой и Н.П. Дубининым (1994).

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета прикладных программ "STADIA 4.5" для ПК (Тюрин, Макаров, 1995). Сравнение частот (долей) клеток с МЯ выполняли с помощью *u*-критерия после  $\phi$ -преобразования их величин (Урбах, 1975, с. 151-169).

Количество и частоты клеток с МЯ ( $p \pm \tau\sigma_p$ , где  $\sigma_p$  – стандартная ошибка частоты,  $\tau\sigma_p$  – доверительный интервал при 95%-ном уровне значимости,  $\tau = 1.96$ ) приведены в табл. 1. Действие только одного ИМП не оказывает статистически достоверного влияния на индуцируемую частоту МЯ. В отсутствие ИМП повышение концентрации свинца в воде ведет к статистически достоверному увеличению частоты клеток с МЯ, начиная с концентрации 1.0 мг/л. При сочетанном воздействии исследуемых концентраций свинца и ИМП ча-

стота МЯ в соответствующих по концентрации металла вариантах выше. В результате порог мутагенного действия металла снижается до 0.8 мг/л. При этом увеличение различий между частотами

Доля эритроцитов с МЯ, %



Зависимости частот эритроцитов с микроядрами, индуцируемыми у головастиков зелёных жаб различными концентрациями свинца при изолированном действии и в сочетании с импульсным электромагнитным полем (41 мТл, 16 Гц).

Таблица 2. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния на частоту эритроцитов с микроядрами у личинок жаб различных концентраций свинца при изолированном и сочетанном с ИМП воздействии

Дисперсия	Сумма квадратов отклонений	Количество степеней свободы	Средняя сумма квадратов	Сила влияния фактора (по Снедекору)
Фактор 1 (ИМП)	0.094	1	0.093	0.017
Фактор 2 (концентрация свинца)	2.097	8	0.262	0.099
Остаточная	0.092	8	0.012	
Общая	2.283	17	0.134	
$F$ (фактор 1) = 8.136 $F$ (фактор 2) = 22.72		$P < 0.001$ $P < 0.001$		

МЯ в соответствующих вариантах концентраций свинца без воздействия ИМП и при их сочетанном воздействии становится статистически достоверным при концентрации 2.8 мг/л и выше. Зависимость частоты эритроцитов с МЯ от концентрации свинца при изолированном и сочетанном с ИМП воздействиях показана на рисунке. Двухфакторный дисперсионный параметрический анализ полученных данных (по неповторяемому факторному плану) свидетельствует о наличии влияния свинца и свинца в сочетании с ИМП на частоту клеток с МЯ (табл. 2).

При воздействии на организм одновременно нескольких факторов их биологический эффект может проявляться в четырёх различных вариантах: 1) одновременное действие независимо друг от друга, когда факторы обладают различными механизмами действия и поэтому вызывают различные эффекты; 2) суммирование эффектов, когда величина конечного эффекта от воздействия двух или более факторов численно равна сумме эффектов, вызываемых при изолированном действии факторов; 3) эффект синергизма, когда результат комбинированного действия нескольких факторов больше их суммы при изолированном воздействии; 4) эффект антагонизма, когда результат комбинированного действия факторов меньше их суммы при изолированном воздействии. Свободные члены уравнений, описывающих зависимость частоты МЯ от концентрации свинца при его изолированном действии ( $0.4641 \pm 0.0181$ ) и в сочетании с ИМП ( $0.5059 \pm 0.0350$ ) не имеют статистически достоверных различий, что доказывает

отсутствие частного эффекта ИМП. В то же время коэффициент регрессии для сочетанного эффекта свинца и ИМП ( $0.2388 + 0.0159$ ) статистически достоверно ( $P < 0.01$ ) больше коэффициента регрессии эффекта одного свинца ( $0.1666 \pm 0.0083$ ). Это можно рассматривать как доказательство синергизма свинца и ИМП при их сочетанном действии на личинок.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об отсутствии влияния ИМП на индукцию МЯ в эритроцитах личинок амфибий, способности свинца увеличивать частоту МЯ в эритроцитах и зависимости этого эффекта от действующей концентрации металла, а также об усилении мутагенного эффекта свинца при его сочетанном с ИМП воздействии на личинок амфибий.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дабаян Н.В., Слепцова Л.А. Травяная лягушка *Rana ridibunda* L. // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 442-462.
- Жулева Л.Ю., Дубинин Н.П. Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области // Генетика. 1994. Т. 30. № 7. С. 999-1004.
- Саев Ю.Е. Антропогенные геохимические аномалии свинца // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 136-149.
- Тюрин Ю.Н., Макаров А.А. Анализ данных на компьютере. М.: Финансы и статистика, 1995. 384 с.
- Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 295 с.