

УДК 612.014.482: 612.127.2+612.127.4

І. В. Гороть✉, М. М. Ткаченко*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, 13, бульвар Т. Шевченка, Київ, 01601, Україна*

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ І МЕТАБОЛІЗМУ РЕАКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА АЗОТУ В СЕРЦЕВО-СУДИННІЙ СИСТЕМІ ЗА ПОСТІЙНОЇ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ У НИЗЬКИХ ДОЗАХ

Мета. Визначення особливостей ультраструктурних змін та метаболізму реактивних форм кисню і азоту в тканинах міокарда, аорти і ворітної вени мишей радіочутливої лінії BALB/c за умов тривалої дії сукупності радіонуклідів чорнобильського викиду та низькоінтенсивного γ -випромінювання в низьких дозах.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проведено на 60 мишах-самцях радіочутливої лінії BALB/c масою тіла 20–22 г, яких було розподілено на 3 групи. група I (контроль) – тварини віком 6–9 міс., які народилися і прожили своє життя у київському віварії за умов природного радіоактивного фону; група II – тварини віком 6 міс., які народилися і все життя знаходилися в Чорнобильській зоні відчуження; група III – тварини, які з тримісячного віку упродовж 6 міс. постійно перебували у клітках з плоскими джерелами іонізуючого випромінювання і зазнали зовнішнього γ -опромінювання у сумарній дозі 0,43 Зв. Тварини груп II і III утримувалися у віварії Інституту проблем безпеки атомних електростанцій НАН України (м. Чорнобиль).

Результати і висновки. Виявлені особливості структурно-функціональних змін в органах серцево-судинної системи та механізмів розвитку оксидативного і нітрозативного стресу за умов тривалої дії сукупності радіонуклідів чорнобильського викиду та низькоінтенсивного γ -випромінювання в низьких дозах на підставі дослідження ультраструктурної організації і метаболізму реактивних форм кисню і азоту передсердних кардіоміоцитів, ендотелію аорти і ворітної вени мишей лінії BALB/c. Встановлено, що за тривалої дії низьких доз радіації виникають зміни, серед яких домінуючим є запуск механізмів апоптозу як кардіоміоцитів, так і ендотеліальних клітин аорти і ворітної вени. Показано, що розвиток оксидативного стресу супроводжується підвищенням активності метаболізму реактивних форм кисню, що відбувається за рахунок активації нуклеотидного і ліпідного генераторів супероксиду. Виявлено, що за цих умов розвиток нітрозативного стресу відбувається внаслідок активації індукцибельного синтезу NO ферментом iNOS та інгібування конститутивного його синтезу ферментом eNOS. Високі рівні одночасної генерації супероксиду і NO, зв'язуючись, призводять до утворення токсичного пероксинітриду, який є ініціатором процесу апоптозу.

Ключові слова: низькі дози радіації, оксидативний стрес, нітрозативний стрес, оксид азоту, ендотелій, апоптоз, миші лінії BALB/c, тривале низькоінтенсивне γ -опромінювання.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2017. Вип. 22. С. 184–201.

✉ Гороть Ірина Василівна, e-mail: gmm@nmu.kiev.ua

I. V. Horot✉, M. M. Tkachenko

Bogomolets National Medical University, T. Shevchenko Boulevard, 13, Kyiv, 01601, Ukraine

Peculiarities of ultrastructural organization and metabolism of reactive forms of oxygen and nitrogen in a cardiovascular system for permanent effects of ionizing radiation in low doses

Objective. Determination of the peculiarities of ultrastructural changes and metabolism of reactive forms of oxygen and nitrogen in the tissues of the myocardium, aorta and portal vein of the radiosensitive BALB/c mice due long-term exposure to the complex of radionuclides of Chernobyl fallout (ejection) and low-intensity low-dose γ -irradiation.

Materials and methods. Experimental studies were performed on 60 mice-female radiosensitive lines BALB/c with a body weight of 20–22 g, which were divided into 3 groups: I group (control) - animals age 6–9 months which were born and lived their lives in Kyiv vivarium under conditions natural radioactive background; II – animals age 6 months, which were born and lived in the Chernobyl exclusion zone throughout their lives; III – animals, which from 3 months of age for 6 months were constantly located in cages with flat ionizing radiation sources and exposed to external γ -irradiation in a total dose of 0.43 Sv. Animals of II and III groups were kept in the vivarium of the Institute for Safety Problems of Nuclear Power Plants of the National Academy of Sciences of Ukraine (Chernobyl). Mice of the BALB/c lines are sensitive to radiation: for males LD 50/30 < 5.7 Gy, for females – 5.85 Gy.

Results and conclusions. The peculiarities of structural and functional changes in the organs of the cardiovascular system (CVS) and mechanisms of the development of oxidative and nitrosative stress due long-term exposure to the complex of radionuclides of the Chernobyl fallout (ejection) and low-intensity low-dose γ -radiation based on the study of ultrastructural organization and metabolism of reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (NRS) of the atrial cardiomyocytes (CMC), the aortic endothelium and portal vein of the BALB/c mice. Found that the permanent exposure to low doses of radiation changes occur, including the dominant mechanism is to run a CMC apoptosis and endothelial cells of the aorta and portal vein. It is shown that the development of oxidative stress accompanied by increased activity of ROS metabolism that occurs due to activation of nucleotide and lipid superoxide generators. Found that under these conditions the development of nitrosative stress is due to the activation of inducible NO synthesis enzyme iNOS and inhibit its synthesis constitutive eNOS enzyme. High levels of simultaneous generation of superoxide and NO, binding, lead to the formation of toxic peroxynitrite, which initiates the process of apoptosis.

Key words: low-dose irradiation, oxidative stress, nitrosative stress, nitric oxide, endothelium, apoptosis, mice line BALB/c, long-term low-intensity irradiation.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2017;22:184–201.

ВСТУП

Питання біологічної ефективності та з'ясування механізмів постійного впливу іонізуючої радіації у низьких дозах на організм належать до найбільш актуальних проблем радіобіології. Інтенсифікація вільнорадикальних реакцій як провідного фактора у розвитку оксидативного стресу і реалізації радіоіндукованих ефектів малими дозами низької інтенсивності була показана в низці робіт, крім того в зоні ЧАЕС встановлена висока біологічна ефективність низькоінтенсивного внутрішнього опромінення [1, 2].

Сучасні уявлення щодо формування радіаційних ефектів в серцево-судинній системі (ССС) базуються на великій кількості клінічних і експериментальних досліджень, виконаних після аварії на ЧАЕС.

INTRODUCTION

Questions of biological efficiency and the finding out of the mechanisms of the permanent impact of low doses of ionizing radiation on the body belong to the most urgent problems of radiobiology. Intensification of free radical reactions as a leading factor in the development of oxidative stress and the implementation of radioinduced effects with low doses of low intensity was shown in a number of works, in addition, in the ChNPP zone, high biological efficiency of low-intensity internal radiation was established [1, 2].

Current ideas about the formation of radiation effects in the cardiovascular system (CVS) are based on a large number of clinical and experimental studies performed after the Chernobyl accident. A num-

Визначено цілу низку радіаційно-індукованих і опосередкованих змін на молекулярному, клітинному, системному та популяційному рівнях [3, 4]. Водночас механізми формування наслідків пролонгованого (хронічного, тривалого) променевого впливу в низьких дозах в структурах ССС залишаються малоз'ясованими, що можна пояснити, насамперед, не тільки недостатнім дослідженням метаболізму реактивних форм кисню (РФК) – оксидативного стресу, але й практично відсутністю наукових даних щодо розвитку нітрозативного стресу, а також особливостей морфофункціональних змін у структурах серця та магістральних судинах за вказаних умов.

Патологічні процеси, які є наслідком опромінення, супроводжуються дисфункцією судинного ендотелію, що призводить до розвитку хвороб ССС [5–7]. Ендотелій є найбільш радіочутливим елементом судинної стінки. Він є важливою ланкою формування і регуляції судинного тонуусу завдяки синтезу і вивільненню вазоактивних речовин [8]. Одним з основних медіаторів судинної реактивності є оксид азоту (NO) [9, 10]. Після з'ясування метаболізму NO стало зрозуміло, що не лише РФК, але й реактивні форми азоту (РФА) можуть чинити вазоактивну (вазопротекторну, вазотоксичну, вазоконстрикторну чи вазодилаторну) дію в ССС [11, 12]. Дисфункція ендотелію за умов дії радіаційного фактора значною мірою пов'язана з дефіцитом ендотеліального NO, який може бути зумовлений пригніченням експресії NOS, зниженням синтезу NO eNOS, нестачею субстратів чи коферментів для синтезу NO, інактивацією NO РФК, синтезом ендогенних інгібіторів NOS, прискореним апоптозом і порушенням електричних реакцій ендотеліальних клітин.

Таким чином, перспективним напрямком можна вважати дослідження радіоіндукованих ефектів в структурах ССС за умов постійної дії сукупності радіонуклідів чорнобильського викиду та низькоінтенсивного γ -випромінювання в низьких дозах на підставі визначення особливостей морфофункціональних змін та механізмів розвитку оксидативного і нітрозативного стресу.

МЕТА

Визначення особливостей ультраструктурних змін та метаболізму реактивних форм кисню та азоту в тканинах міокарда, аорти і ворітної вени мишей радіочутливої лінії BALB/c за умов тривалої дії сукупності радіонуклідів чорнобильського викиду та низькоінтенсивного γ -випромінювання в низьких дозах.

ber of radiation-induced and mediated changes on the molecular, cellular, systemic and population levels have been determined [3, 4]. At the same time, the mechanism of the formation of the effects of prolonged (chronic, prolonged) radiation exposure of low doses in the structures of the CVS remains poorly understood, which can be explained, first of all, not only by inadequate research on the metabolism of RFC – oxidative stress, but also by the lack of scientific data on the development of nitrosatitistic stress, and Also features of morphofunctional changes in the structures of the heart and trunk vessels under the specified conditions.

Pathological processes that are the result of irradiation are accompanied by dysfunction of the vascular endothelium, which leads to the development of CVS diseases [5–7]. The endothelium is the most radiosensitive element of the vascular wall. It is an important link in the formation and regulation of vascular tone due to the synthesis and release of vasoactive substances [8]. One of the major mediators of vascular reactivity is nitric oxide (NO) [9, 10]. After clarifying the NO metabolism, it became clear that not only RFCs, but also RFAs can make vasoactive (vazoprotector, vasotoxic, vasoconstrictor, or vasodilator) action in the CVS [11, 12]. Endothelial dysfunction under the influence of the radiation factor is largely due to endothelial NO deficiency, which may be due to inhibition of NOS expression, a decrease in the synthesis of NO eNOS, lack of substrates or coenzymes for NO synthesis, inactivation of NO RFC, synthesis of endogenous NOS inhibitors, accelerated apoptosis, and Violation of electrical reactions of endothelial cells.

Thus, a promising direction can be considered research of radio-induced effects in the structures of CVS under a permanent impact of radionuclide mixture from the Chernobyl discharge and low-intensity γ radiation in low doses on the basis of the determination of the features of morphofunctional changes and mechanisms of the development of oxidative and nitrosatitistic stress.

OBJECTIVE

Defining features of ultrastructural changes and metabolism of reactive oxygen and nitrogen in the tissues of the myocardium, the aorta and the portal vein of mice radiosensitive lines BALB/c for constant conditions of low doses of ionizing radiation in the Chernobyl exclusion zone and chronic external γ -irradiation.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проведено на 60 мишах-самцях радіочутливої лінії BALB/c масою тіла 20–22 г, яких було розподілено на 3 групи: I група (контроль) – 6–9 міс. тварини, які народилися і прожили своє життя у київському віварії за умов природного радіоактивного фону; II – 6 міс. тварини, які народилися і все життя знаходилися в Чорнобильській зоні відчуження; III – тварини, які з трьохмісячного віку упродовж 6 міс. постійно перебували у клітках з плоскими джерелами іонізуючого випромінювання і зазнали зовнішнього γ -опромінення у сумарній дозі 0,43 Зв. Тварини II і III групи утримувалися у віварії Інституту проблем безпеки атомних електростанцій НАН України (м. Чорнобиль). Миші лінії BALB/c чутливі до дії радіації: для самців $LD_{50/30} < 5,7$ Гр, для самок – 5,85 Гр.

Умови проведення експерименту відповідали нормативам закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2001) і «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

За даними звіту ДСНПП «Екоцентр» МНС України (м. Чорнобиль, 1998) про радіаційну ситуацію в зоні відчуження, на основі картографічної зйомки території м. Чорнобиля за розподілом ^{90}Sr , ^{137}Cs , $^{238-240}\text{Pu}$, ^{241}Am у шарі ґрунту 0–5 см від поверхні виявлено три зони з аномально високими рівнями вмісту цих радіонуклідів. Територія віварію, в якому знаходилися тварини, потрапляє до центру однієї з таких зон. На ній вміст радіонуклідів $^{238-240}\text{Pu}$ був у межах 2–3 кБк/м², ^{240}Am 4–6,6 кБк/м², ^{90}Sr 100–180 кБк/м², ^{137}Cs 200–510 кБк/м². Співвідношення радіонуклідів було наступним: ^{90}Sr – 30 %, ^{137}Cs – 68 %, ^{240}Am – 0,3 %, $^{238-240}\text{Pu}$ – 0,3 %.

Накопичена доза зовнішнього опромінення III групи тварин, яку вимірювали приладом MKC-0,1p на висоті 10 см над поверхнею джерела, становила 96,9 мкЗв/год, що відповідало сумарній дозі 430,1 мЗв за 187 діб експозиції. Для експерименту були виготовлені плоскі джерела іонізуючого опромінення – імібілізовані бетоном гарячі частинки з пропаленого ґрунту «Рудого лісу», що моделюють іонізуюче опромінення «чорнобильського спектру» низької інтенсивності. Спектр γ -поля, що вимірювали за допомогою спектрометричної системи ВТІ Microspec-2 фірми «Bubble Technology Industries, Inc.» (Канада), в основному (близько 90 %) складався з комптонівського випромінювання, ^{137}Cs (7 %), а також інших радіонуклідів.

MATERIAL AND METHODS

Experimental studies were performed on 60 male-female radiosensitive lines BALB/c with a body weight of 20–22 g, which were divided into 3 groups: I group (control) – 6–9 months of animals who were born and lived their lives in Kyiv vivarium under conditions natural radioactive background; II – 6 months of animals, who were born and lived in the Chernobyl exclusion zone throughout their lives; III – animals, which from three months of age for 6 months were constantly located in cells with flat ionizing radiation sources and exposed external γ -irradiation in a total dose of 0.43 Zv. Tverini II and III groups were kept in the vivarium of the NPB NPP of the National Academy of Sciences of Ukraine (Chernobyl). Mice of the BALB/c lines are sensitive to radiation: for lambs $LD_{50/30} < 5.7$ Gy, for females – 5.85 Gy.

The conditions of the experiment vidpovidaly norms of the Law of Ukraine «On protection of animals from cruelty» (2001) and «The European Convention on zahyst vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes» (Strasbourg, 1985).

According to the report DSNPP «Ecocenter» (1998) about the radiation situation in the exclusion zone, based mapping capture territory. Chernobyl for distribution of ^{90}Sr , ^{137}Cs , $^{238-240}\text{Pu}$, ^{241}Am in soil layer 0–5 cm from the surface identified three zones of anomalous High levels of the content of these radionuclides. The territory of the vivarium, in which the animals were located, falls to the center of one of these zones. It radionuclide $^{238-240}\text{Pu}$ content was within 2.3 kBq/m², ^{241}Am 4–6.6 kBq/m², ^{90}Sr 100–180 kBq/m², ^{137}Cs 200–510 kBq/m². Value was naatupnym radionuclides: ^{90}Sr – 30%, ^{137}Cs – 68%, ^{241}Am – 0,3%, $^{238-240}\text{Pu}$ – 0,3%.

The accumulated dose of external radiation of the III group of animals measured by the MKS-0,1p device at a height of 10 cm above the source of the source was 96.9 $\mu\text{Sv/h}$, corresponding to a total dose of 430.1 mSv for 187 days of exposure. For the experiment, flat springs of ionizing radiation were made – immobilized concrete hot particles from the burnt soils of the Red Forest that simulate ionizing radiation of the «Chernobyl Spectrum» of low intensity. The spectrum of the γ - fields measured with the aid of the Microspec-2 WTI spectrometric system of Bubble Technology Industries, Inc. (Canada) consisted mostly of Compton Emitter, ^{137}Cs (7%), and other radionuclides.

Радіоактивне забруднення зерна, що постійно використовувалося для годування тварин, за β -активними радіонуклідами складало 1,550 Бк/кг, при тому за ретроспективною радіометрією у тушках тварин забруднення не було виявлено.

Електронномікроскопічні дослідження. Подрібнені шматочки міокарда правого передсердя, грудного відділу аорти і ворітної вени фіксували у 1 % розчині чотириокису осмію, зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації, починаючи з 70° до 100° спирту, ацетоні, просочували сумішшю епоксидних смол (аралдит і епон), заключали в епоксидні смоли за загальноприйнятою методикою. Після полімеризації при температурі 56 °С на ультратомах «Reichard» (Австрія) і ЛКВ-III (Швеція) виготовляли напівтонкі зрізи, які забарвлювали толуїдиновим синім, а потім ультратонкі зрізи, які контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю. Їх вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125К («Selmi», Україна) і фотографували при збільшеннях від 3000 до 20000 разів.

Морфометричні дослідження міокарда проведені на напівавтоматичному пристрої обробки графічних зображень за допомогою програми «Органела», розробленої в Інституті проблем патології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Визначали об'єм, який займає структура в одиниці об'єму цитоплазми, тобто об'ємну щільність міофібрил (ОЩМФ, %) і мітохондрій (ОЩМТ, %) та їх співвідношення (ОЩМФ/ОЩМТ, од.); кількісну щільність мітохондрій (КЩМТ, шт./мкм³), площу їх зрізу (ПЗМТ, мкм²) і фактор форми (ФФМТ, ум. од.).

На однаковій кількості фрагментів передсердних кардіоміоцитів (КМЦ), знятих на однакових збільшеннях, підраховували загальну кількість секреторних гранул і співвідношення I, II та III типів гранул.

Біохімічні дослідження. Тканини правого передсердя, грудної аорти і ворітної вени гомогенізували за допомогою гомогенізатора Поттера (тефлон/скло, 1000 об/хв). Протягом досліду гомогенати тримали на льоду. У гомогенатах серця, аорти і ворітної вени визначали швидкість генерації РФК: $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$, вміст H_2O_2 ; вміст РФА: NO_2^- , NO_3^- , НМНТ (низькомолекулярні нітрозотіоли); ВМНТ (високомолекулярні нітрозотіоли); вміст низькомолекулярних антиоксидантів (сечової кислоти, сечовини); вміст продуктів неферментативного (дієнові кон'югати – ДК, малоновий діальдегід – МДА) та ферментативного (лейкотрієн C_4 – LTC₄ тромбоксан B_2 – Tx B_2), перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

The radioactive contamination of grain, which was constantly used for feeding animals, by β -active radionuclides was 1,550 Bq/kg, with the retrospective radiometry in animal carcasses was not detected.

Electron microscopic research. Shredded myocardial cells of the right atrium, thoracic aorta and portal vein were fixed in 1 % osmium tetrachloride solution, dehydrated in ethanol of increasing concentration, starting with 70° to 100° of alcohol, acetone, impregnated with a mixture of epoxy resins (araldyt and epon), enclosed in epoxy Resins according to the usual method. After polymerization at a temperature of 56° C, Reichard (Austria) and LKB-III (Sweden) ultra-thin materials were made of toluidine blue and then ultra-thin cuts that were contrasted with uranyl acetate and lead citrate. They were studied under an electron microscope PEM-125K («Selmi», Ukraine) and photographed at magnifications from 3000 to 20,000 times.

Morphometric studies of myocardium are carried out on a semi-automatic device for processing graphic images using the program «Organel», developed by the Institute of Pathology Problems of O. O. Bohomolets NMU. Determine the volume occupied by the structure in the unit volume of the cytoplasm, that is, the volume density of myofibrils (OSCHMF, %) and mitochondria (OSCMТ, %) and their ratio (OSCHMF/OSCMТ, units); The quantitative density of mitochondria (KSCMT, pcs/ μm^3), their cutoff area (PZMT, μm^2) and the form factor (FFMT, UM).

At an equal number of fragments of atrial CMC, taken at the same magnifications, the total number of secretory granules and the ratio of I, II and III types of granules were calculated.

Biochemical studies. The tissues of the right atrium, thoracic aorta and portal vein were homogenized using a Potter homogenizer (Teflon/glass, 1000 rpm). During the experiment, the homogenates were kept on ice. In the homogeneous nuclei of the heart, aorta and portal vein, the rate of generation of the RFK was revealed: $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$, the content of H_2O_2 ; The content of XRF: NO_2^- , NO_3^- , NMТТ (low molecular nitrosothiols); HMNT (high molecular nitrosothiols); The content of low molecular weight antioxidants (uric acid, urea); The content of non-enzymatic products (diene conjugates – DC, malonic dialdehyde – MDA) and enzymatic (leukotriene C_4 – LTC₄ tromboxane B_2 – Tx B_2) lipid peroxidation (LPO).

Статистичну обробку експериментальних результатів здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7 (Microcal Software, USA). Достовірність отриманих даних оцінювали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням параметричного коефіцієнту Ст'юдента для оцінки вірогідності відмінностей груп даних.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Електронномікроскопічний аналіз ультраструктурної організації передсердних КМЦ тварин II групи показав, що поряд з неушкодженими КМЦ спостерігалися клітини з різним ступенем пошкодження міофібрил: розходження міофіламентів у саркомерах, розширення відстані між міофібрилами, їх лізис. Характерними для КМЦ були дилатовані міофібрили. На відсутність грубих деструктивних процесів у скоротливому апараті КМЦ вказував і морфометричний аналіз: об'єм, який займали міофібрили в одиниці об'єму цитоплазми, становив $(30,9 \pm 1,4) \%$, що достовірно не відрізнявся від показника в контрольній групі (табл. 1).

Частина мітохондрій за формою та будовою були аналогічні органелам I групи, в інших виявлено фрагментацію крист, електронне просвітлення матриксу. Виразність змін залежала від розташування органел: пошкодження міофібрил супроводжувалося дистрофічно зміненими мітохондріями.

Ще однією особливістю ультраструктури передсердних КМЦ мишей II групи була поява значної кількості ліпідних включень та лізосом, переважно третинних. Подекуди спостерігалися ділянки КМЦ, що відокремлювалися мікроклазматозом в інтерстицій і заповнені лізосомами та залишковими тільцями. Все

Statistical processing of experimental results was carried out using methods of variation statistics using software Origin 7 (Microcal Software, USA). The reliability of the received data was estimated using methods of variation statistics using the parametric coefficient of the Student to assess the likelihood of differences in data groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Electron microscope analysis of the ultrastructural organization atrial CMC Group II animals showed that the number of intact cells CMC observed with different stupenem damaged myofibrils: miofilamentiv differences in the sarcomere, expanding the distance between miofibrylamy their lysis. Characteristic for CMC were dylyatovani myofibrils. In the absence of gross destructive processes in the contractile apparatus vkazuvav CMC and morphometric analysis: the volume is occupied by myofibrils per unit volume of cytoplasm was $30,9 \pm 1,4\%$, which was not significantly different from the control group pokaznyka (tab. 1).

Part of the mitochondria in form and structure were analogical to organelles of group I, in others crystal fragmentation was detected, electronic matrix enlighthentment. The tenacity of the changes depended on the location of the organelles: myofibril damage was accompanied by dystrophically altered mitochondria.

Another feature of the ultrastructure of atrial MCC in the mice of the II group was the appearance of a significant number of lipid inclusions and lysosomes, mostly tertiary. Somewhere there were areas of CMC isolated microclasmatically in interstitium and filled with lysosomes and residual bod-

Таблиця 1

Морфофункціональна характеристика кардіоміоцитів правого передсердя мишей лінії BALB/c, що зазнали постійної дії іонізуючої радіації у низьких дозах.

Table 1

Morphofunctional characteristic of the right atrial cardiomyocytes of BALB/c mice exposed to the permanent impact of low doses of ionizing radiation.

Показники / indices	Групи обстеження / examined groups		
	I	II	III
ОЦМФ / VDMF, %	29,3 ± 4,3	30,9 ± 1,4	26,4 ± 3, 6
ОЦМТ / VDMT, %	30,3± 2,9	21,4 ± 2,1*	14, 2 ± 1, 9***
(ОЦМТ / ОЦМФ), од. / (VDMF / VDMT), un	1,03 ± 0,03	0,69±0,02*	0,53±0,04***
(КЦМТ, шт./мкм ³) / (QDMT, pc/μm ³)	0,51 ± 0,05	0,47 ± 0,09	0,41 ± 0,03
ПЗМТ, мкм ² / МТСА, μm ²	0,41 ± 0,02	0,33 ± 0,02*	0,29 ± 0,01*
ФФМТ, ум. од. / FFMT, con. un	0,81 ± 0,02	0,8 ± 0,01	0,73 ± 0,02

Примітка. *Різниця достовірна відносно контролю (p < 0,05); **різниця достовірна відносно II групи (p < 0,05).
Note. *Significant difference vs. control (p < 0.05); **significant difference vs. group II (p < 0.05).

це вказує на активацію аутолітичних процесів на фоні посилення процесів переокиснення ліпідів (рис. 1 А).

Порушувалися і зв'язки КМЦ між собою. Вставні диски зазнавали змін і десмосомальних, і нексусних з'єднань. Слід також відмітити наявність міжфібрилярного, навколоядерного та підсарколемального набряку. Рідинний надлишок у вигляді вакуолярних утворень виводився за межі клітин [13].

Подібні зміни встановили в КМЦ мишей III групи, але виразність змін більш виражена. КМЦ знаходилися на різних стадіях апоптозу (рис. 1 В). Це проявлялося поступовим зменшенням розмірів клітин, ущільненням їх цитоплазми, відокремленням однієї від іншої внаслідок втрати міжклітинних контактів і утворення псевдоподій. КМЦ значно зменшувалися у розмірах, в результаті фрагментації виштовхувалися з ряду і спостерігалися в інтерстиційному просторі. В цитоплазмі частини КМЦ відмічали великі пухирі з електроннопрозорим вмістом, можливо рідиною набряку, і організований дрібнодисперсний матеріал помірної електронної щільності, не оточений мембраною. Спостерігали двоядерні КМЦ і клітини, ядра яких мають інвагінації ядерної оболонки. Це, з одного боку, збільшує площу ядерної поверхні, а з іншого – може бути ознакою поліплоїдизації КМЦ як відповідь на загибель частини цих клітин за дії низьких доз радіації (НДР) [14].

ies. All this indicates the activation of autolytic processes against the background of enhancement of lipid peroxidation processes (Fig. 1A).

Disturbed and the links of the CMC between themselves. Insert discs have undergone changes both desmosomal, and non-aqueous compounds. It should also be noted the presence of interfibrillary, around-nucleus and subarecolleal edema. The liquid surplus in the form of vacuolar formations was deduced from the boundaries of cells [13].

Similar changes were introduced in the CMC of the mice of the third group, but the severity of changes is more pronounced. CMCs were found at different stages of apoptosis (Fig. 1B). This was manifested by a gradual decrease in the size of cells, consolidation of their cytoplasm, separation from one another due to the loss of intercellular contacts and formation of pseudopodes. CMCs decreased significantly in size, as a result of fragmentation, they pushed out of a row and were observed in the interstitial space. In the cytoplasm of CMC, large blisters with electron-permeable contents, possibly a fluid of edema, and a fine-dispersed material of moderate electron density, not surrounded by a membrane, were observed. Observed were dual-core CMCs and cells whose nuclei had invasions of the nuclear shell. This, on the one hand, increases the area of nuclear surface, and on the other hand, it can be a sign of the polyploidization of CMC in response to the death of these cells for the actions of the low doses of radiation (LDR) [14].

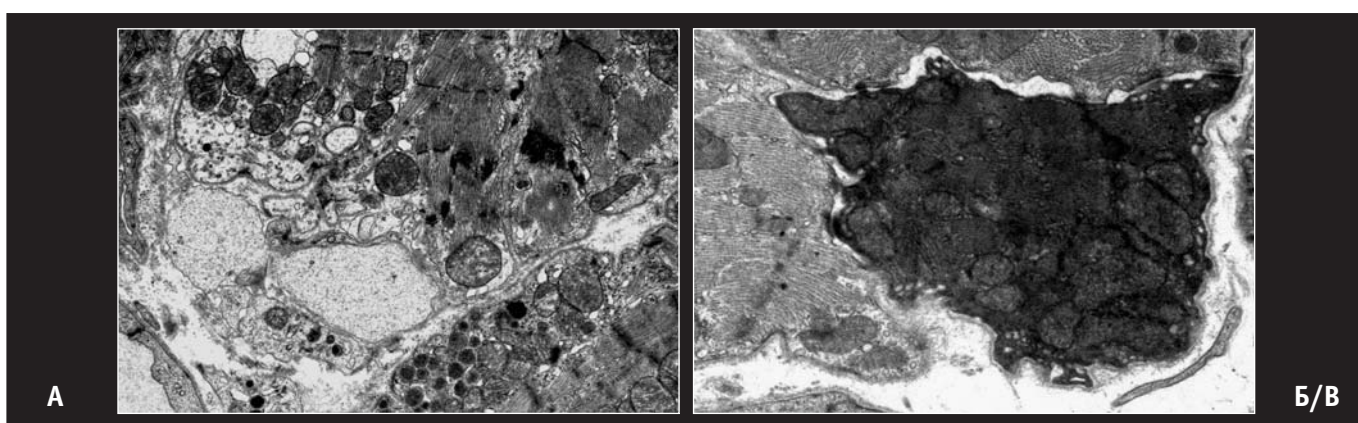


Рисунок 1. Ультраструктура міокарда правого передсердя мишей лінії BALB/c із секвестрованими, мікроклаватозними ділянками, лізосомами і вакуолярними утвореннями за умов дії НДР зони відчуження (А) і апоптозно змінений КМЦ після хронічного зовнішнього γ -опромінення в сумарній дозі 0,43 Зв (Б). А – $\times 12200$; Б – $\times 16500$.

Figure 1. Ultrastructure of the right atrium of the BALB/c mice with sequestered, microclavicular regions, lysosomes and vacuolar formations under the conditions of the LDR exclusion zone (A) and apoptosis modified CMC after chronic external γ -irradiation with a total dose of 0.43 Sv (B). A – $\times 12200$; B – $\times 16500$.

Морфометричний аналіз свідчив про статистично достовірне зниження об'ємної щільності мітохондрій (ОЩМТ) проти контрольного показника до $(21,4 \pm 2,1)/(14,2 \pm 1,9) \%$ в II і III групі тварин, відповідно. Вказані зміни відбувалися внаслідок зменшення розмірів мітохондрій: їх площа в середньому дорівнювала $(0,33 \pm 0,02)/(0,29 \pm 0,01) \text{ мкм}^2$. Збільшення кількості дрібних форм відбувалося одночасно з появою крупних мітохондрій. Поява значного числа невеликих за розмірами мітохондрій при незмінності показника кількісної щільності, тобто їх кількості в одиниці об'єму цитоплазми, може свідчити, що процеси новоутворення мітохондрій відбувалися на фоні їх часткової загибелі. Внаслідок зниження ОЩМТ при стабільності об'ємної щільності міофібрил (ОЩМФ) в опромінених тварин показано зниження співвідношення цих показників $\{(0,69 \pm 0,02)/(0,53 \pm 0,04) \text{ од.}\}$ відносно контролю $(1,03 \pm 0,03 \text{ од.})$ (табл. 1). Все це, а також присутність юних, функціонально незрілих мітохондрій, призводить до дефіциту енергозабезпечення і порушення скоротливості КМЦ.

В цитоплазмі повсюдно спостерігали незначно розширені каналці саркоплазматичної сітки, рибосоми, полісоми, комплекс Гольджі. Секреторні гранули, як і у інтактних тварин, представлені трьома типами, але їх співвідношення змінилося: зменшилася кількість гранул I типу до 9/10 % при збільшенні числа гранул III типу до 66/61 %. Такі зміни свідчать про паралельне зниження процесів синтезу і секреції в КМЦ (табл. 2).

Ще однією особливістю ультраструктури передсердних КМЦ у тварин III групи була незначна кількість каналців комплексу Гольджі. Це позначилося на зменшенні загальної кількості гранул (677) у

The morphometric analysis indicated a statistically significant decrease in the volume density of mitochondria (OSCMT) against the control index to $(21.4 \pm 2.1)/(14.2 \pm 1.9) \%$ in the second and third groups of animals, respectively. Vcaise changes occurred as a result of diminishing the size of the mitochondria: their area averaged $(0.33 \pm 0.02)/(0.29 \pm 0.01) \mu\text{m}^2$. An increase in the number of small forms went off simultaneously with the appearance of large mitochondria. The emergence of a significant number of small-sized mitochondria with a constant quantitative density, that is, their numbers per unit volume of the cytoplasm, may indicate that the processes of tumors of the mitochondria occurred on the background of their partial death. As a result of the decrease in OSCMT in the stability of the volume density of myofibrils (OSCHMF) in irradiated animals, a decrease in the ratio of these parameters $\{(0.69 \pm 0.02)/(0.53 \pm 0.04) \text{ units}\}$ relative to control $(1.03 \pm 0,03 \text{ units})$ (Table 1). All this, as well as the presence of young, functionally immature mitochondria, leads to a shortage of energy supply and contraction of the CMC.

In cytoplasm, insignificantly expanded tubules of the sarcoplasmic net, ribosomes, polysomes, Golgi complex were observed everywhere. Secretory granules, as in intact animals, are represented by three types, but their ratio has changed: the number of granules of type I decreased to 9/10 % with an increase in the number of granules of type III to 66/61%. Such changes indicate a partial reduction in the synthesis and secretion processes in the CMC (Table 2).

The infinite number of tubules of the Golgi complex was another peculiarity of the ultrastructure of atrial CMC in animals of the third group. This affected the reduction of an equal number of gran-

Таблиця 2

Співвідношення різних типів передсердних гранул у кардіоміоцитах правого передсердя мишей лінії BALB/c, що зазнали постійного впливу іонізуючої радіації у низьких дозах (%).

Table 2

The ratio of different types of atrial granules in the cardiomyocytes of right atrial of the BALB/c mice exposed to permanent low-dose ionizing radiation (%).

Типи / types	Групи обстеження / examined groups					
	I (контроль) I (control)		II (експоновані в зоні відчуження) II (exhibited at the exclusion zone)		III (γ-опромінення в сумарній дозі 0,43 Зв) III (γ-irradiation at the total dose 0.43 Sv)	
	Абс. / abs.	%	Абс. / abs.	%	Абс. / abs.	%
I	208	22	110	9	66	10
II	276	28	325	25	198	29
III	491	50	853	66	413	61
Усього / total	975		1288		677	

порівнянні з контролем (табл. 2). Спостерігали також не характерні для КМЦ витягнуті та неправильної форми гранули [13, 14].

За тривалої дії НДР в зоні відчуження кровоносні мікросудини — прекапіляри, капіляри та посткапіляри не зазнавали значних деструктивних змін. При цьому міжендотеліальні контакти ущільнені. Це свідчить, що в дрібних обмінних кровоносних судинах на фоні активних трансцитозних процесів виражені біосинтетичні та аутолітичні процеси. В більших за діаметром кровоносних судинах міокарда виявлено більш виразні зміни. В артеріолах цитоплазма частини ендотеліоцитів набула підвищеної електронної щільності, мітохондрії з локально лізованим матриксом і кристами. Інші ендотеліоцити, електроннопросвітлені внаслідок набряку і лізису складових цитоплазми, видавалися у просвіт судини.

Особливостями судин гемомікроциркуляторного русла тварин III групи було підвищення їх реактивності на фоні збереженої ультраструктури. На реактивність вказує збільшення звивистості стінки гемомікросудин, кількості мікровиросків і мікроворсинок на їх люмінальній поверхні.

Ультраструктурний аналіз аорти мишей лінії BALB/c показав, що за тривалої дії НДР найбільш уразливим є ендотелій. Спостерігали втрату зв'язків між базальною поверхнею ендотеліоцитів і базальною мембраною (рис. 2 А). Вочевидь, сприяють цьому утворення пухирів, які транспортують рідину набряку, і речовини, які утворились при руйнуванні компонентів підендотеліального шару. За рахунок пухирцеподібних утворень ендотелій формував аркади різної висоти. В ендотелії аорти зменшувалася кількість органел загального призначення на фоні суттєвого збільшення кількості секреторних тілець Вейбеля-Паладе. Крайнім проявом пошкодження ендотелію аорти були ділянки його десквамації, тобто базальна мембрана залишалася оголеною на значних відстанях. Базальна мембрана при цьому була розпушена і деструктурована (рис. 2 А).

У тварин III групи характер і ступінь пошкодження судин були більш вираженими, ніж у тварин II групи. Ендотелій не контактував з базальною мембраною на значних відстанях, стоншені периферійні ділянки нерівномірно видавалися у просвіт судини, надаючи ендотеліальному вистеленню хвилястого вигляду. Виявлено ділянки набряку та лізису цитоплазми (рис. 2 В). Наявність ендотеліоцитів з підви-

улен (677) compared with control (Table 2). Observed were also that the extracted and irregularly shaped pellets were not typical for CMC [13, 14].

No significant destructive changes of the blood vessels (precapillaries, capillaries and postcapillaries) emerged under the long-term effect of LDR in the exclusion zone. Interendothelial contacts herewith are tightened. This testifies that in small metabolic blood vessels on the background of active transitional processes expressed biosynthetic and autolytic processes. In the larger diameter of the blood vessels of the myocardium, more distinct changes were detected. Cytoplasm of some endothelial cells of arterioles has increased electron density, mitochondria with a locally grown matrix and crystals. Other endothelial cells are electron-enlightened due to edema and lysis of the cytoplasmic components, which were released into the lumen of the vessel.

The peculiarities of microvasculature blood vessels of animals of the III group were to increase their reactivity on the background of the preserved ultrastructure. The reactivity is characterized by an increase in the vibrations of the wall of the hemomycosis, the number of micro-viruses and microvilliums on their luminal surface.

Ultrastructural analysis of the aorta of mice of the BALB/c line showed that the long-lasting effect of HPD is the most vulnerable endothelium. Observed loss of connections between the basal surface of the endothelial cells and the basal membrane (Fig. 2A). Obviously, it contributes to the formation of blisters, which train the fluid of edema and substances that were formed when the components of the subendothelial layer were destroyed. Due to the puffy formations, the endothelium formed arcades of different heights. In aortal endothelium the amount of organelles of general use decreased with the background of a significant increase in the number of Weybel-Pelade secretory bodies. The ultimate manifestation of damage to the aortic endothelium was the area of its desquamation, that is, the basement membrane remained nude at considerable distances. The basement membrane was loosened and disorganized (Fig. 2A).

In animals of the IIIrd group, the nature and extent of vascular damage were more pronounced vs. in animals of the IInd group. The endothelium did not contact the basement membrane at significant distances, thinned peripheral areas unevenly appeared in the lumen of vessel, providing an endothelial lining wavy appearance. The areas of edema and lysis of the cytoplasm were found (Fig. 2C). The presence of endo-

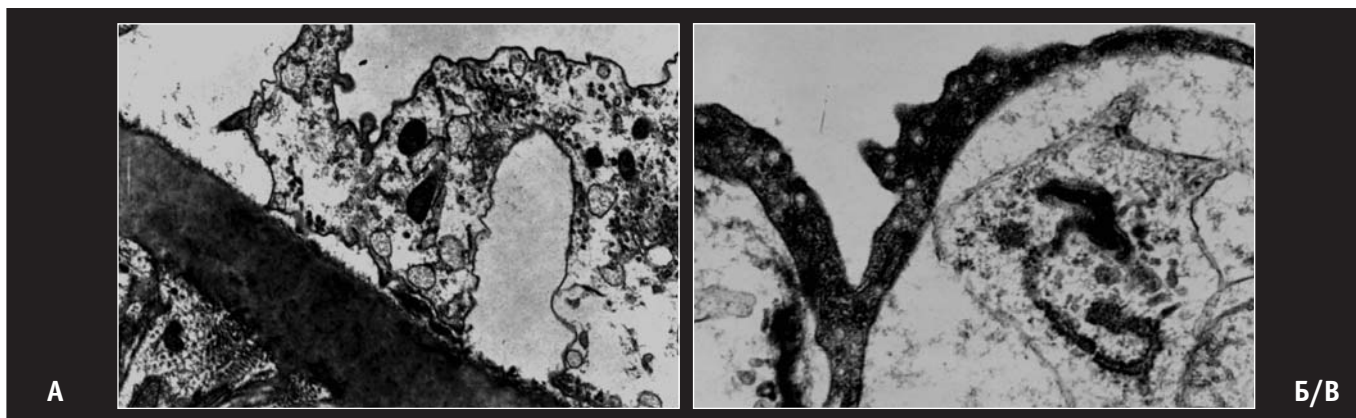


Рисунок 2. Ультраструктура ендотелію аорти мишей лінії BALB/c з ділянками локального розширення підендотеліального простору і десквамацією за умов дії НДР зони відчуження (А). $\times 16300$. Ендотеліоцит з електронно ущільненою цитоплазмою після тривалого зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою $0,43 \text{ Sv}$ (Б). $\times 40000$.

Figure 2. The ultrastructure of the aorta endothelium of the BALB/c mice with sites of local expansion of the subendothelial space and desquamation under the conditions of the LDR exclusion zone (A). $\times 16300$. Endothelial cell with electron densified cytoplasm after a long-term external γ -irradiation at the total dose 0.43 Sv (B). $\times 40000$.

щеною електронною щільністю цитоплазми за рахунок зменшення кількості органел та мікропіноцитозних везикул і накопичення дрібнодисперсного, електроннощільного матеріалу свідчить про початкові стадії апоптозу (рис. 2 В). Базальна мембрана розпушена і деструктурована.

Зазвичай, в опроміненіх тварин в зоні десквамації ендотелію аорти гладеньком'язові клітини гіпертрофовані. Ядра з глибокими інвагінаціями і транскрипційно неактивним гетерохроматином. В цитоплазмі більшості клітин ендотелію аорти переважали міофіламенти, розмішені хаотично. Порушення скоротливого апарату зумовлено недостатністю енергетичного забезпечення цих клітин в результаті зменшення кількості мітохондрій у порівнянні з I групою тварин, просвітлення їх матриксу та деструкції крист [15].

Проведене електронномікроскопічне дослідження ворітної вени тварин, які зазнали впливу НДР, свідчило про суттєві зміни їхньої стінки. Так, у тварин II групи у більшій мірі проявлялась активація органел метаболічного плану, що призводило до збільшення розміру ядер та їхніх ядерців, і це є специфічним для радіаційного ушкодження. Неспецифічним для радіаційного ушкодження ендотелію була його десквамація, практично всі патології супроводжуються локальним відділенням ендотеліального вистелення від базальної мембрани і розглядається як реактивне ушкодження, яке успішно відновлюється (рис. 3 А).

thelial cells with elevated electron density of the cytoplasm due to a decrease in the number of organelles and mikropinotsitoznyh vesicles and the accumulation of fine-dispersed, electron-bearing material indicates the initial stages of apoptosis (Fig. 2C). Basement membrane is loosened and destructured.

Usually, in irradiated animals in the desquamation zone of the aortic endothelium, the smooth muscle cells are hypertrophied. Kernels with deep invaginations and transcriptionally inactive heterochromatin. In the cytoplasm of most cells of the endothelium of the aorta, the myofilaments, which are chaotic, have been altered. Violation of the contraction apparatus is due to the lack of energy supply of these cells as a result of a decrease in the number of mitochondria in comparison with the I group of animals, the clarification of their mantra and destruction of crust [15].

An electron microscopic examination of the portal vein of animals exposed to GDI showed significant changes in their walls. Thus, in Animals of Group II, the activation of the organelle of the metabolic plan was more pronounced, which led to an increase in the size of the nuclei and their nuclei, and this is specific for radiation damage. Non-specific for endothelial radiation damage was its desquamation, practically all pathologies are accompanied by a local branch of endothelial ligation of the basement membrane and considered as a reactive injury, which is successfully restored (Fig. 3A).

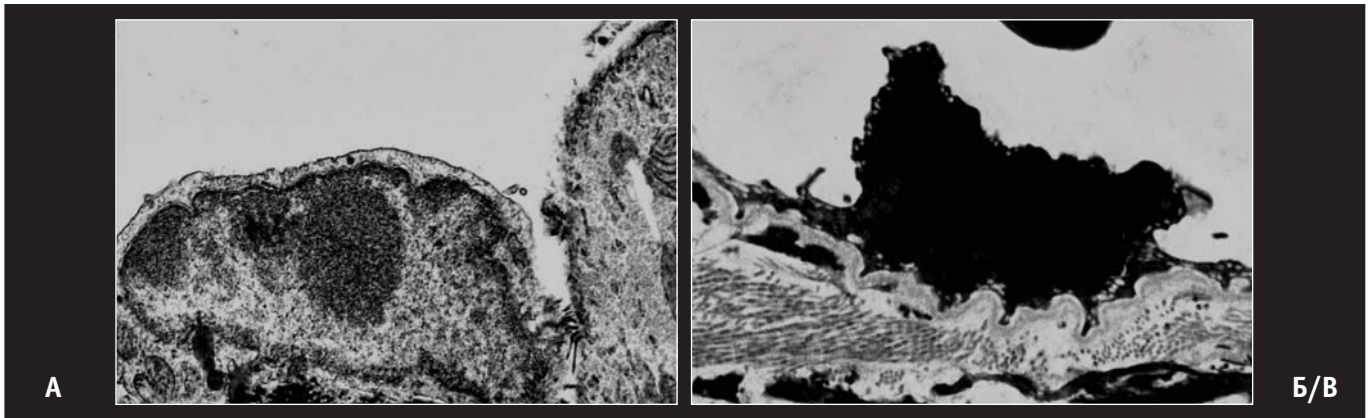


Рисунок 3. Ультраструктура ендотелію ворітної вени мишей лінії BALB/c з локальним лізісом плазматичної мембрани і десквамацією за умов дії НДР зони відчуження (А). x 15000. Шоковий ендотеліоцит після тривалого зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв (Б). x 15000.

Figure 3. Ultrastructure of the endothelium of the portal vein of the BALB/c mice with local lysis of the plasma membrane and desquamation under the conditions of the LDR of the exclusion zone (A) x 15000. The shock endothelitis following a long-term external γ -irradiation at the total dose 0.43 Sv (B). x 15000.

У тварин III групи виявлено високу макрофагальну активність у підендотеліальному шарі внутрішньої оболонки ворітної вени. При цьому макрофаги спостерігали як у великій кількості, так і в активному стані. Вони мали численні лізосоми на різних стадіях формування: первинні лізосоми, що є малоактивними, вторинні або фагосоми, які включають до свого складу ліпідні гранули, та третинні лізосоми або залишкові тільця. Базальна мембрана розшарована на п'ять і більше шарів аж до повної гомогенізації та утворення суцільного шару з елементами набряку. Рідина набряку переноситься за допомогою трансендотеліальних пухирців.

Як правило, скупчення макрофагів спостерігали біля базальної мембрани в оточенні колагенових волокон, структурна організація яких була також пошкоджена. Разом з незмінними і досить активними у метаболічному плані, виявлено шоківі ендотеліоцити, тобто, вони знаходяться на різних рівнях електронної щільності (рис. 3 В). Ці клітини мали електроннощільні ядра і ядерця. Периферійна зона таких клітин надто стоншена, органели, практично, відсутні, мітохондрії поодинокі і розміщені біля ядра. Такий стан клітин передуює апоптозу, ініційованому у внутрішній оболонці ворітної вени тривалою дією НДР. За цих умов відмічаються зміни гладеньком'язових клітин середньої оболонки ворітної вени, для яких характерний апоптоз більшої частини клітин. У підендотеліальному шарі ворітної вени спостерігали переважання еластичних волокон над колагеновими, тоді як у неопромінених тварин більше колагенових [16].

In animals of the III group, high microphage activity was detected in the subendothelial layer of the inner vein of the portal vein. In this case, macrophages were observed both in large numbers and in active state. They had numerous lysosomes at different stages of formation: primary lysosomes that were inactive, secondary or phagosomes, which included lipid granules in their composition, and tertiary lysosomes or residual corneas. Basal membrane is layered on five or more layers up to complete homogenization and the formation of a continuous layer with elements of edema. The fluid is swollen with transendothelial bubbles.

As a rule, the accumulation of macrophages was observed near the basement membrane, surrounded by collagen fibers, whose structural organization was also damaged. Together with the unchanged and sufficiently active in the metabolic plan, shock endothelial cells are detected, that is, they are found at different levels of electron density (Fig. 3B). These cells had electron-cell nuclei and nucleoli. The peripheral zone of such cells is too thinned, organelles, virtually absent, mitochondria are isolated and located near the nucleus. Such cell wall precedes apoptosis, initiated in the inner shell of the portal vein by a prolonged action of LDR. Under these conditions, changes in the gland-cells of the middle vein of the portal vein, which are characterized by apoptosis in most of the cells, are noted. In the subendothelial layer of the portal vein, the predominance of elastic fibers over collagen was observed, while in non-irradiated tvari more collagen [16].

Проведене електронномікроскопічне дослідження міокарда, аорти і ворітної вени мишей лінії BALB/c за умов тривалого впливу НДР свідчить про радіоіндуковані зміни як КМЦ, так і ендотеліальних клітин аорти і ворітної вени, які призводять до запуску механізмів апоптозу [13–16].

Подальші наші дослідження показників оксидативного стресу показали, що після 6-місячного перебування в Чорнобильській зоні відчуження за умов тривалої дії НДР у тварин II групи рівні генерації $\cdot\text{O}_2^-$ підвищувалися лише у судинах (в аорті і ворітній вені), але не в серці, тоді як швидкість генерації $\cdot\text{OH}$ значно зростала лише у ворітній вені (рис. 4).

Водночас пули стабільного H_2O_2 і сечової кислоти за дії НДР зростали у всіх досліджуваних органах ССС. Пули H_2O_2 в серці тварин II групи були вищими майже в 4 рази, в аорті та ворітній вені – майже в 2 рази у порівнянні з контролем. Вміст сечової кислоти зростав більш ніж у 10 разів у ворітній вені, тоді як у серці і аорті був значно меншим (в 2 рази) порівняно з контрольними значеннями (рис. 4). Це вказує на підвищення активності нуклеотидного (ксантиноксидаза) генератора супероксиду за дії НДР у зоні відчуження, а, отже, і про значний рівень деградації аденін- і гуанін-нуклеотидів. Саме цей процес є однією з основних причин запуску апоптичної програми [17].

У тварин III групи рівень генерації $\cdot\text{OH}$ підвищився як в серці, так і в судинах – аорті і ворітній вені у

Electron microscope study conducted infarction, aortic and portal vein mice BALB/c under conditions of prolonged exposure to research suggests radiation induced changes in both the CMC and the endothelial cells of the aorta and portal vein leading to zapusku mechanisms of apoptosis [13–16].

Further our study of indicators of oxidative stress showed that after 6 months of stay in the Chernobyl exclusion zone under conditions tryvaloyi action research in animals Group II level generation $\cdot\text{O}_2^-$ raised only vessels (in the aorta and portal vein), but not in the heart, while $\cdot\text{OH}$ generation rate significantly zrostala only in the portal vein (Fig. 4).

Thereat the pools of stable H_2O_2 and uric acid under the LDR impact increased in all CVS organs. H_2O_2 pools in the heart of animals of the group II were higher than the control level at least 4 times and ~ 2 times higher in aorta and portal vein. Levels of uric acid increased by more than 10 times in portal vein, whereas the increase in the heart and aorta was significantly lower (2-fold) vs. control values (Fig. 4). This indicates an increase in activity of nucleotide (xanthine oxidase) generator of superoxide over the effects of the LDR in the exclusion zone, and, consequently, on the significant level of degradation of adenine and guanine nucleotides. This process is one of the main reasons for the launch of apoptotic program [17].

In animals of the IIIrd group, the level of generation $\cdot\text{OH}$ has increased both in the heart and vessels – the

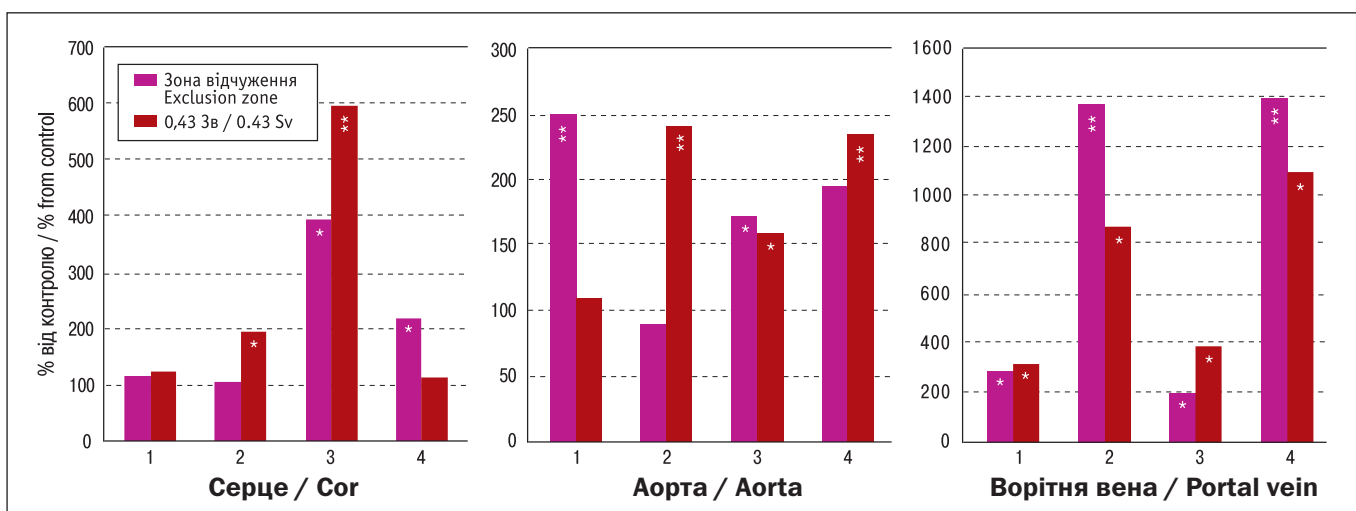


Рисунок 4. Порівняння показників оксидативного стресу в серцево-судинній системі за умов дії низьких доз радіації зони відчуження і хронічного зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв. 1 – швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$; 2 – швидкість генерації $\cdot\text{OH}$; 3 – вміст H_2O_2 ; 4 – вміст сечової кислоти.

*Різниця достовірна відносно контролю ($p < 0,05$); **різниця достовірна у порівнянні з зоною відчуження ($p < 0,05$).

Figure 4. Comparison of oxidative stress indices in the cardiovascular system under the low dose radiation exposure at the exclusion zone and the chronic external γ -irradiation in a total dose of 0.43 Sv.

1 – $\cdot\text{O}_2^-$ generation rate; 2 – $\cdot\text{OH}$ generation rate; 3 – H_2O_2 content; 4 – uric acid content.

*Difference is significant relative to control ($p < 0.05$); **difference is reliable compared with the exclusion zone ($p < 0.05$).

порівнянні з даними контролю, і зі значеннями II групи (рис. 4). Значно вищими від значень зони відчуження були й пули стабільного H_2O_2 у серці і ворітній вені тварин III групи. Інших достовірних змін відносно даних Чорнобильської зони відчуження серед показників, що характеризують інтенсивність оксидативного стресу за дії зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв ми не зафіксували.

При порівнянні показників нітрозативного стресу за умов постійного впливу НДР встановлено значне підвищення пулів NO_3^- у серці і ворітній вені тварин II групи (рис. 5).

Оскільки NO_3^- в значній мірі є продуктом нерадикальної деградації пероксинітриду, таке зростання пулів NO_3^- свідчить про те, що за тривалої дії НДР в серці і ворітній вені пероксинітрид утворюється, але розпадається переважно нерадикальним шляхом. В той же час, в аорті пероксинітрид, швидше за все, утворюється, але розпадається на два токсичних радикали – діоксиду азоту і $\cdot OH$, які обидва є ініціаторами процесів неферментативного ПОЛ. Про утворення пероксинітриду в аорті свідчить також значне підвищення генерації $\cdot O_2^-$ і збільшення рівня нітрозильованих білків (ВМНТ), позаяк саме пероксинітрид є основним нітрозильюючим фактором (рис. 5). В аорті тварин II групи

aorta and portal vein in comparison with both control data and values of the IInd group (Fig. 4). Significantly higher values of the exclusion zone were the bullets of stable H_2O_2 in the heart and the portal vein of animals of the III group. Other reliable changes in relation to the data of the Chernobyl exclusion zone among the indicators that characterize the intensity of oxidative stress by the action of external γ -irradiation with a total dose of 0.43 Zv did not fix.

When comparing nitrosative stresses in the conditions of constant influence of GDI, a significant increase in NO_3^- pools in the heart and portal vein of animals of the II group was established (Fig. 5).

Since NO_3^- is largely a product of non-radical peroxynitrite degradation, such an increase in pools of NO_3^- suggests that peroxidant peroxynitrite is formed during prolonged action of NDP in the heart and portal vein, but is metabolized mainly by non-radical pathway. At the same time, in the aorta, peroxynitrite is most likely formed, but it splits into two toxic radicals – nitrogen dioxide and $\cdot OH$, both of which are the initiators of processes of non-enzymatic LPO. The formation of peroxynitrite in aorta is also evidenced by a significant increase in the generation of $\cdot O_2^-$ and an increase in the level of nitrosated proteins (VMNT), since peroxynitrite is the main nitrosating factor (Fig. 5). In aorta of animals of the

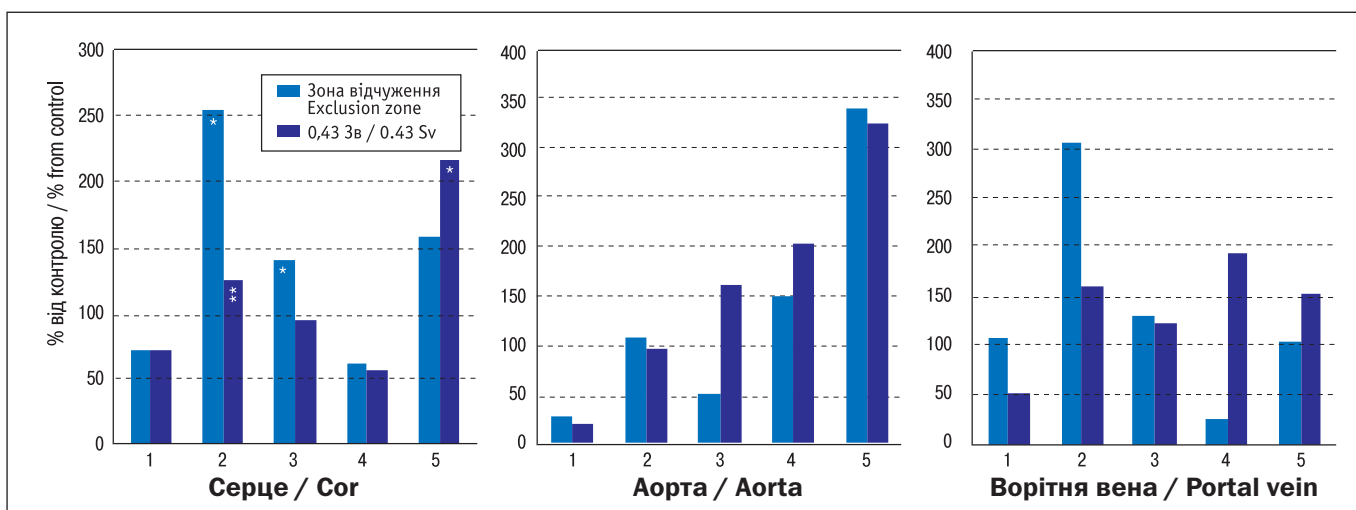


Рисунок 5. Показники нітрозативного стресу в серцево-судинній системі за умов дії низьких доз радіації зони відчуження і хронічного зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв.

1 – нітрит-аніон (NO_2^-); 2 – нітрат-аніон (NO_3^-); 3 – низькомолекулярні нітрозотіоли (НМНТ); 4 – високомолекулярні нітрозотіоли (ВМНТ); 5 – сечовина.

*Різниця достовірна відносно контролю ($p < 0,05$); **різниця достовірна у порівнянні з зоною відчуження ($p < 0,05$).

Figure 5. Nitrosative stress indices in the cardiovascular system under the low dose radiation exposure at the exclusion zone and the chronic external γ -irradiation in a total dose of 0.43 Sv.

1 – nitrite anion (NO_2^-); 2 – nitrate anion (NO_3^-); 3 – low molecular weight nitrosothiols (LMNT); 4 – high molecular weight nitrosothiols (HMNT); 5 – urea.

*Difference is significant relative to control ($p < 0.05$); **difference is reliable compared with the exclusion zone ($p < 0.05$).

приріст пулів сечовини був найвищим (майже в 3,5 раза), тоді як у серці цей показник зростав лише у 1,5 раза, а у ворітній вені залишався майже на вихідному рівні. Це вказує на значну активацію аргіназного неокисного метаболізму L-аргініну в аорті тварин під впливом НДР, а, отже, й на більш значне пригнічення в аорті внаслідок тривалої дії НДР конститутивного синтезу NO. Це підтверджується найнижчим рівнем NO_2^- саме в аорті та відсутністю зниження пулів NO_2^- в серці і ворітній вені.

Близькими до значень із зони відчуження були й зміни показників, що характеризують інтенсивність нітрозативного стресу в серці, аорті і ворітній вені тварин III групи. Винятком було лише достовірне зниження величини пулів NO_3^- в серці і ворітній вені та, навпаки, достовірне підвищення пулів НМНТ в аорті і пулів ВМНТ у ворітній вені тварин III групи, порівняно з II групою (рис. 5). Підвищення пулів НМНТ в аорті і ВМНТ у ворітній вені тварин свідчить про те, що нітрозативний стрес за дії НДР виникає за рахунок більш інтенсивного індукційного синтезу NO de novo. В той же час, зменшення пулів NO_3^- в серці і ворітній вені тварин III групи вказує на збільшення долі вільнорадикального розпаду пероксинітриту. На зниження конститутивного синтезу NO eNOS вказує і зменшення пулів NO_2^- в аорті і ворітній вені в порівнянні з контролем і значеннями II групи. Достовірне підвищення вмісту сечовини у всіх досліджуваних органах в порівнянні з вихідними даними свідчить про активацію неокисного аргіназного метаболізму аргініну (рис. 5) [18].

Отже, наші дослідження показали, що можливими причинами проапоптичної дії НДР за умов тривалого їх впливу в органах ССС мишей лінії BALB/c може бути, крім вказаної вище стимуляції генерації РФК і пероксинітриту, а з іншого – пригнічення синтезу NO конститутивним шляхом, який пригнічує відкриття мітохондріальної пори, тим самим запобігаючи апоптичній загибелі КМЦ, ендотеліальних і гладеньком'язових клітин судин. В свою чергу, зниження конститутивного синтезу NO може бути наслідком значної активації за тривалої дії НДР аргіназного метаболізму L-аргініну [17–18].

Порівняння показників перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) за умов постійного впливу НДР показало, що у всіх досліджуваних органах ССС тварин II групи за тривалої дії НДР зони відчуження значно (у 2,5–5,5 раза) підвищується вміст LTC_4 (рис. 6). Це

IInd group, the growth of urea pools was the highest (almost 3.5 times), whereas in the heart it grew only 1.5 times, and in the portal vein remained almost at the initial level. This indicates a significant activation of the arginine non-oxidative metabolism of L-arginine in aorta of animals under the influence of GDI, and, consequently, to a more significant depression in aorta due to the long-term effect of LDR's constitutive synthesis NO. This is confirmed by the lowest level of NO_2^- , namely in aorta and absence of reduction of NO_2^- pools in the heart and portal vein.

Changes in parameters characterizing the intensity of nitrosative stress in heart, aorta, and portal vein of animals of the III group were also close to the values from the exclusion zone. The exception was only a significant decrease in the size of NO_3^- pools in the heart and portal vein and, conversely, a significant increase in the number of NNMT pools in aorta and in the STDs in portal vein of animals of group II, vs. the II group (Fig. 5). The increase of NMTT pools in aorta and intestinal tuberculosis in the portal vein of animals indicates that nitrosative stress for the effects of LDR occurs due to the more intensive inductive synthesis NO de novo. At the same time, the reduction of NO_3^- pools in the heart and portal vein of the group III indicates an increase in the free radical decomposition of peroxynitrite. Reduction of the constitutive synthesis NO of eNOS also indicates the reduction of NO_2^- pools in aorta and portal vein vs. control and values of the II group. Reliable increase of urea content in all investigated organs in vs. initial data testifies to activation of arginine nonoxidine arginase metabolism (Fig. 5) [18].

Thus, our study showed that possible causes proapoptotic action research under prolonged their influence in bodies CAS mice BALB/c may be further specified above stimulation generation of ROS and peroxynitrite, and the other – the inhibition of NO synthesis constitutive pathway that inhibits opening mitochondrial pores, thus preventing the death apoptychniy CMC, endothelial and smooth muscle cells of blood vessels. In turn, lower constitutive synthesis of NO may result from activation znachnoyi long action research arhinaznoho metabolism of L-arginine [17–18].

Comparison of LPO in conditions of constant exposure research has shown that in all investigated organs CVS group II animals for prolonged action research znachno Zone (2.5–5.5 times) increases the content of LTC_4 (Fig. 6). This indicates the

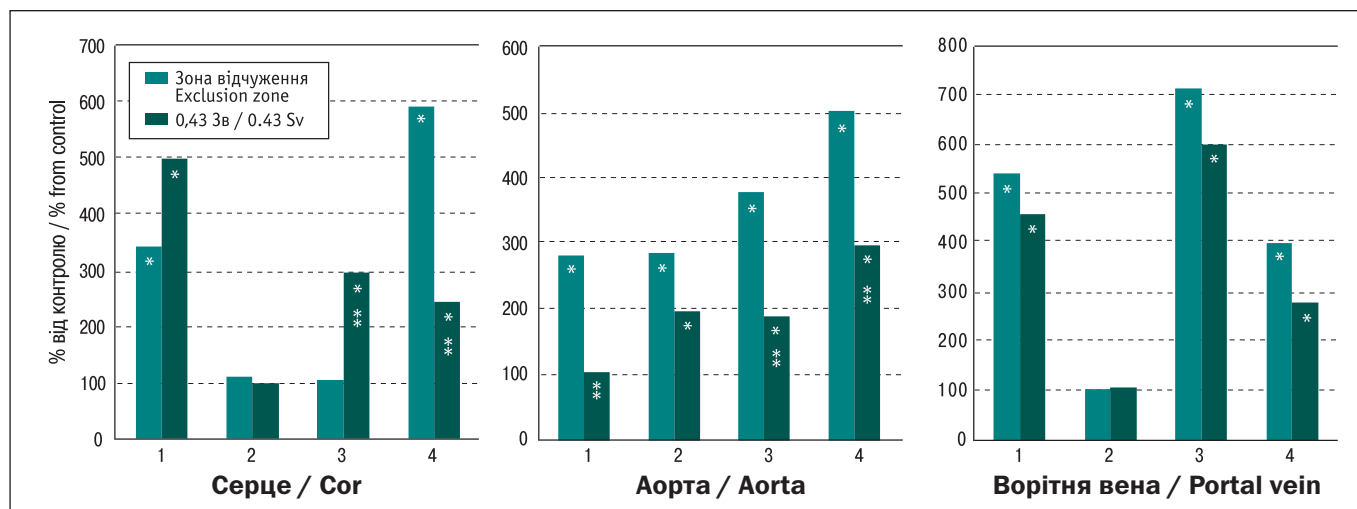


Рисунок 6. Порівняння показників ПОЛ в серцево-судинній системі за умов дії низьких доз радіації зони відчуження і хронічного зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв.

1 – лейкотрієн (LTC₄); 2 – тромбоксан В₂ (TxV₂); 3 – дієнові кон'югати (ДК); 4 – малоновий діальдегід (МДА).

*Різниця достовірна відносно контролю ($p < 0,05$); **різниця достовірна у порівнянні з зоною відчуження ($p < 0,05$).

Figure 6. Comparison of LPO indices in the cardiovascular system under the low dose radiation exposure at the exclusion zone and the chronic external γ -irradiation in a total dose of 0.43 Sv.

1 – leucotriene (LTC₄); 2 – tromboxane B₂ (TxV₂); 3 – dijene conjugate (DC); 4 – malone dialdehyde (MDA).

*Difference is significant relative to control ($p < 0.05$); **difference is reliable compared with the exclusion zone ($p < 0.05$).

вказує на активацію ліпідного ліпоксигеназного генератора $\cdot\text{O}_2^-$, чого не можна сказати про циклооксигеназний генератор (синтез простагландинів і TxV₂ одночасно з $\cdot\text{O}_2^-$), активність якого достовірно підвищується лише в аорті майже в 3 рази. Встановлено значне підвищення вмісту і продуктів ферментативного процесу ПОЛ. За винятком серця, де вміст дієнових кон'югатів (ДК) не підвищувався, в аорті і ворітній вені підвищувались і ранні (ДК у 3,5–7,5 рази), і пізні (малоновий діальдегід – майже у 4–5 разів), (рис. 6).

При порівнянні величини пулів продуктів ферментативного ПОЛ в досліджуваних органах тварин II і III групи було встановлено реципрокні зміни. Рівні LTC₄ в серці тварин III групи підвищувалися порівняно зі значеннями II групи, тоді як в аорті вони, навпаки, знижувалися. Аналогічні зміни мали місце і для раннього продукту неферментативного ПОЛ – ДК. В той же час, для пізнього продукту (МДА) спостерігали однонаправлене зниження в усіх досліджуваних органах відносно II групи. Останнє засвідчує більшу тривалість активної фази вільнорадикальної ланцюгової реакції ПОЛ за умов хронічного зовнішнього γ -опромінення сумарною дозою 0,43 Зв порівняно з дією НДР зони відчуження, за якої кожна ланцюгова реакція неферментативного вільнорадикального ПОЛ була більш короткотривалою.

activation of lipid lipoksyhenaznoho $\cdot\text{O}_2^-$ generator, which is not the cyclooxygenase generator (prostaglandyniv synthesis and simultaneously ThV₂ $\cdot\text{O}_2^-$), whose activity increased significantly only in the aorta is almost 3 times. Significant increase in the content and products of the fermentative process of LPO is established. With the exception of the heart, where the content of control are not increased, the aorta and the portal vein and promoted early (DC) 3.5-7.5 times, and late (MDA) mayzhe in 4-5 times (Fig. 6).

When comparing the size pools enzymatic peroxidation products in the studied organs of animals II and III groups were established reciprocal changes. LTC₄ levels in the heart of the third group of animals raised compared with the values of the second group, while in the aorta are, on the contrary, decreased. Similar changes have taken place also for the active product of a non-enzymatic POL-DK. At the same time, a late product (MDA) observed a unilateral reduction in all organs studied relatively second group. Last certifying longer duration of the active phase vilnoradykalnoyi peroxidation chain reaction under conditions of chronic external γ -irradiation total dose of 0.43 Sv compared with action research exclusion zone in which each non-enzymatic reaction lantsyuhova vilnoradykalnoho LPO was more short-lived.

ВИСНОВКИ

1. На підставі дослідження ультраструктурної організації і метаболізму реактивних форм кисню (РФК) і азоту (РФА) передсердних кардіоміоцитів (КМЦ), ендотелію аорти і ворітної вени мишей лінії BALB/c виявлені особливості структурно-функціональних змін в органах ССС та механізмів розвитку оксидативного і нітрозативного стресу за умов тривалої дії сукупності радіонуклідів чорнобильського викиду та низькоінтенсивного γ -випромінювання в низьких дозах.
2. Внаслідок тривалого впливу іонізуючої радіації у низьких дозах відбуваються морфофункціональні зміни в енергетичному апараті кардіоміоцитів правого передсердя, які проявляються їх гіперплазією на фоні часткової загибелі. Дефіцит енергозабезпечення, а також накопичення щільних бляшок, що пошкоджують вставні диски, призводить до погіршення скоротливих властивостей міокарда.
3. За тривалої дії низьких доз радіації виникають зміни, серед яких домінуючим є запуск механізмів апоптозу як КМЦ, так і ендотеліальних клітин аорти і ворітної вени. Розвиток оксидативного стресу супроводжується підвищенням активності метаболізму РФК, що відбувається за рахунок активації нуклеотидного і ліпідного генераторів супероксиду. Розвиток нітрозативного стресу відбувається внаслідок активації індукцйбельного синтезу NO ферментом iNOS та інгібування конститутивного його синтезу ферментом eNOS. Високі рівні одночасної генерації супероксиду і NO, зв'язуючись, призводять до утворення токсичного пероксинітриту, який є ініціатором процесу апоптозу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дружина Н. А., В. Ф. Чехун. Проблема оценки канцерогенного риска малых доз радиации. Междунар. мед. журн. 2003. № 3. С. 78-82.
2. Дрозд І. П. Хронічний вплив іонізуючої радіації на організм тварин і людини. Ядерна фізика та енергетика. 2013. Т. 14, № 1. С. 42-50.
3. Білько Д. І., Сенюк О. Ф., Руссу І. З., Жалейко І. О., Білько Н. М. Характер взаємодії опромінених і неопромінених клітин в культурі дифузійних камер *in vivo*. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18. С. 299-304.
4. Радиационный гормезис при действии малых доз ионизирующего излучения : учеб. пособие по курсу «Экологическая биофизика» / В. Г. Петин, М. Д. Пронкевич ; Нац. исслед. ядер. ун-т «МИФИ», Обнин. ин-т атом. энергетики (ИАТЭ), фак. естеств. наук. - Обнинск : ИАТЭ НИЯУ МИФИ, 2013. 56 с.
5. Малая, Л. Т., Корж А. Н., Балковая Л. Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. Харьков : Форсинг, 2000. 432 с.

CONCLUSIONS

1. Based on the study of ultrastructural organization and metabolism of reactive forms of oxygen (RFC) and nitrogen (RFA) of atrial cardiomyocytes (CMC), aortic endothelium and portal vein of the BALB/c mice, features of structural and functional changes in the organs of the CCC and mechanisms of oxidative and Nitrosatitative stress in the conditions of the long-term effect of the combination of radionuclides of Chornobyl emissions and low-intensity γ -radiation in low doses.
2. Due to the long-term effects of ionizing radiation in low doses, morphofunctional changes occur in the energetic apparatus of the right atrial cardiomyocytes, which are manifested by their hyperplasia on the background of partial death. The shortage of energy supply, as well as the accumulation of dense plaques damaging the inserts, leads to deterioration of the contractile properties of the myocardium.
3. During the long-term exposure to low doses of radiation there are changes, among which the predominant is the launch of apoptotic mechanisms of CMC and endothelial cells of aorta and portal vein. Development of oxidative stress is accompanied by an increase in the activity of metabolism of the RFC, which occurs due to activation of the nucleotide and lipid superoxide generators. Development of nitrosatitative stress occurs as a result of activation of the inducible synthesis of NO by an enzyme iNOS and inhibition of its constitutive synthesis with the enzyme eNOS. High levels of simultaneous generation of superoxide and NO, binding, lead to the formation of toxic peroxy-nitrite, which initiates the process of apoptosis.

REFERENCES

1. Druzhina NA, Chekhun V F. [The problem of estimating the carcinogenic risk of small doses of radiation]. International Medical Journal. 2003;(3):78-82. Russian.
2. Drozd IP. [Chronic effects of ionizing radiation on the organism of animals and humans]. Nuclear Physics and Power Engineering. 2013;14(1):42-50. Ukrainian.
3. Bilko DI, Senyuk OF, Russu IZ, Zhaleiko IO, Bilko NM. The nature of the interaction of irradiated and non-irradiated cells in the culture of diffusion chambers *in vivo*. Probl Radiac Med Radiobiol. 2013;18:299-304.
4. Petin VG, Pronkevich MD; National Research Nuclear University «MIFI», Obninsk Institute of Atomic Energy. [Radiation hormezis at the action of small doses of ionizing radiation: study. Allowance for the course «Ecological biophysics»]. Obninsk: IATE NIUA MIFI; 2013. 56 p. Russian.

6. Фролькис, В. В., Безруков В. В., Мала Л. Т. Механізм дії оксиду азоту на серцево-судинну систему та патогенетичне лікування захворювань серцево-судинної системи. Кровообіг та гемостаз. 2003. № 2. С. 42-43.
7. Мойбенко О. О., Сагач В. Ф., Ткаченко М. М., Коркушко О. В., Безруков В. В., Кульчицький О. К., Стефанов О. В., Соловйов А. І., Мала Л. Т., Фролькис В. В. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань. Фізіол. журн. 2004. Т. 50, № 1. С. 11-30.
8. Ткаченко М. Н., Коцюрuba А. В., Базилук О. В., Таланов С. А., Поперека Г. М., Сенюк О. Ф., Сагач В. Ф. Сосудистая реактивность и метаболизм реактивных форм кислорода и азота при действии низких доз радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49, № 4. С. 462-472.
9. Tarpey M. M., Fridovich I. Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxytrite. Circ. Res. 2001. Vol. 89. P. 224-236.
10. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. J. Nutr. 2007. Vol. 137. P. 1616S-1620S.
11. Gajdusek C., Onoda K., London S., Johnson M., Morrison R., Mayberg M. Early molecular changes in irradiated aortic endothelium. J. Cell Physiol. 2001. Vol. 188, № 1. P. 8-23.
12. Touyz R. M. Linking LOX-1 and arginase II through mitochondria. A novel paradigm in endothelial dysfunction. Circulat. Res. 2014. Vol. 115. P. 412-414.
13. Гороть И. В., Ткаченко М. Н. Кардиотоксическое действие низких доз радиации в условиях Чернобыльской зоны отчуждения. CreateSpace 4900. LaCrossRoad, NorthCharleston, SC, USA 29406, 2013. С. 37-40.
14. Гороть И. В., Ткаченко М. М. Проапоптическое действие низких доз радиации на кардиомиоциты правого предсердия. Fundamental science and technology - promising developments III. Vol. 2. 24-25 апреля 2014 г. North Charleston, USA. CreateSpace 4900 LaCross Road, North Charleston, SC, USA 29406, 2014. P. 54-57.
15. Гороть И. В., Ткаченко М. Н. Влияние низких доз радиации на реактивность и ультраструктурную организацию аорты. Science in the modern information society. Т. 2. 3-4 апреля 2013 г., Москва. CreateSpace 4900. LaCrossRoad, NorthCharleston, SC, USA 29406, 2013. С. 73-76.
16. Гороть И. В., Ткаченко М. Н., Поперека Г. М. Ультраструктурная организация воротной вены в условиях действия низких доз радиации. Topical areas of fundamental and applied research II. Т. 4. CreateSpace 4900. LaCross Road, North Charleston, SC, USA 29406, 2013. С. 59-61.
17. Tkachenko M. N., Kotsjuruba A. V., Bazilyuk O. V., Gorot I. V., Sagach V. F. Peculiarities of changes of vascular reactivity and reactive form of oxygen in conditions of varying duration of permanent stay in the Alienation zone. Int. J. Phys. and Pathophys. 2011. Vol. 2, № 1. P. 55-68.
5. Malaya LT, Korzh AN, Balkovaya LB. [Endothelial dysfunction with pathology of the cardiovascular system]. Kharkiv: Forcing; 2000. 432 p. Russian.
6. Frolkis W, Bezrukov W, Malaya LT. [Mechanism of action of nitric oxide on the cardiovascular system and pathogenetic treatment of diseases of the cardiovascular system]. Blood circulation and hemostasis. 2003;(2):42-3. Ukrainian.
7. Moibenko OO, Sagach VF, Tkachenko MM, Korkushko OV, Bezrukov W, Kulchytsky OK, Stefanov OV, Solovyov AI, Mala LT, Voroshilov W. [Fundamental mechanisms of action of nitric oxide on the cardiovascular system as the basis of pathogenetic treatment of its diseases]. Physiol Journ. 2004;50(1):11-30. Ukrainian.
8. Tkachenko MN, Kotsyuruba AV, Basiluk AV, Talanov SA, Popereka GM, Senyuk OF, Sagach VF. [Vascular reactivity and metabolism of reactive forms of oxygen and nitrogen with the action of low doses of radiation]. Radiation biology. Radioecology. 2009;49(4):462-72. Russian.
9. Tarpey MM, Fridovich I. [Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxytrite]. Circ Res. 2001;89:224-36.
10. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. J Nutr. 2007;137:1616S-20S.
11. Gajdusek C, Onoda K, London S, Johnson M, Morrison R, Mayberg M. Early molecular changes in the irradiated aortic endothelium. J Cell Physiol. 2001;188(1):8-23.
12. Touyz RM. Linking LOX-1 and arginase II through mitochondria. A novel paradigm in endothelial dysfunction. Circulat Res. 2014;115:412-414.
13. Gorot IV, Tkachenko MN. Cardiotoxic effect of low radiation doses under the conditions of the Chernobyl exclusion zone. CreateSpace 4900 LaCrossRoad, NorthCharleston, SC, USA 29406; 2013. p. 37-40. Russian.
14. Gorot IV, Tkachenko MM. Proapoptotic effect of low doses of radiation on cardiomyocytes of the right atrium. Fundamental science and technology - promising developments III. Vol. 2. April 24-25, 2014 North Charleston, USA. CreateSpace 4900. LaCross Road, North Charleston, SC, USA 29406; 2014. p. 54-7. Russian.
15. Gory I.V. Influence of low doses of radiation on reactivity and ultrastructural organization of aorta / I.V. Gorot, M.N. Tkachenko // Science in the modern information society. Т. 2, April 3-4, 2013, Moscow. CreateSpace 4900. LaCrossRoad, NorthCharleston, SC, USA 29406; 2013. p. 73-6. Russian.
16. Gorot IV, Tkachenko MN, Porter GM. Ultrastructural organization of the portal vein under conditions of action of low doses of radiation. Topical areas of fundamental and applied research II. Т. 4. CreateSpace 4900. LaCross Road, North Charleston, SC, USA 29406; 2013. p. 59-61. Russian.
17. Tkachenko MN, Kotsurub AV, Bazilyuk OV, Gorot IV, Sagach VF. Peculiarities of changes in vascular reactivity and reactive form of oxygen in conditions of varying duration of permanent residence in the Alienation zone. Int J Phys Pathophys. 2011;2(1):55-68.

18. Tkachenko M. N., Kotsjuruba A. V., Bazilyuk O. V., Gorot I. V., Remennik O. I., Sagach V. F. Vascular reactivity and metabolism of the reactive form of oxygen and nitrogen: effects of low doses of radiation. Int. J. Low Rad. 2011. Vol. 8, № 2. P. 107-121.

18. Tkachenko MN, Kotsjuruba AV, Bazilyuk OV, Gorot IV, Remennik OI, Sagach VF. Vascular reactivity and metabolism of the reactive form of oxygen and nitrogen: effects of low doses of radiation. Int J Low Rad. 2011;8(2):107-21.

Стаття надійшла до редакції 31.08.2017

Received: 31.08.2017