

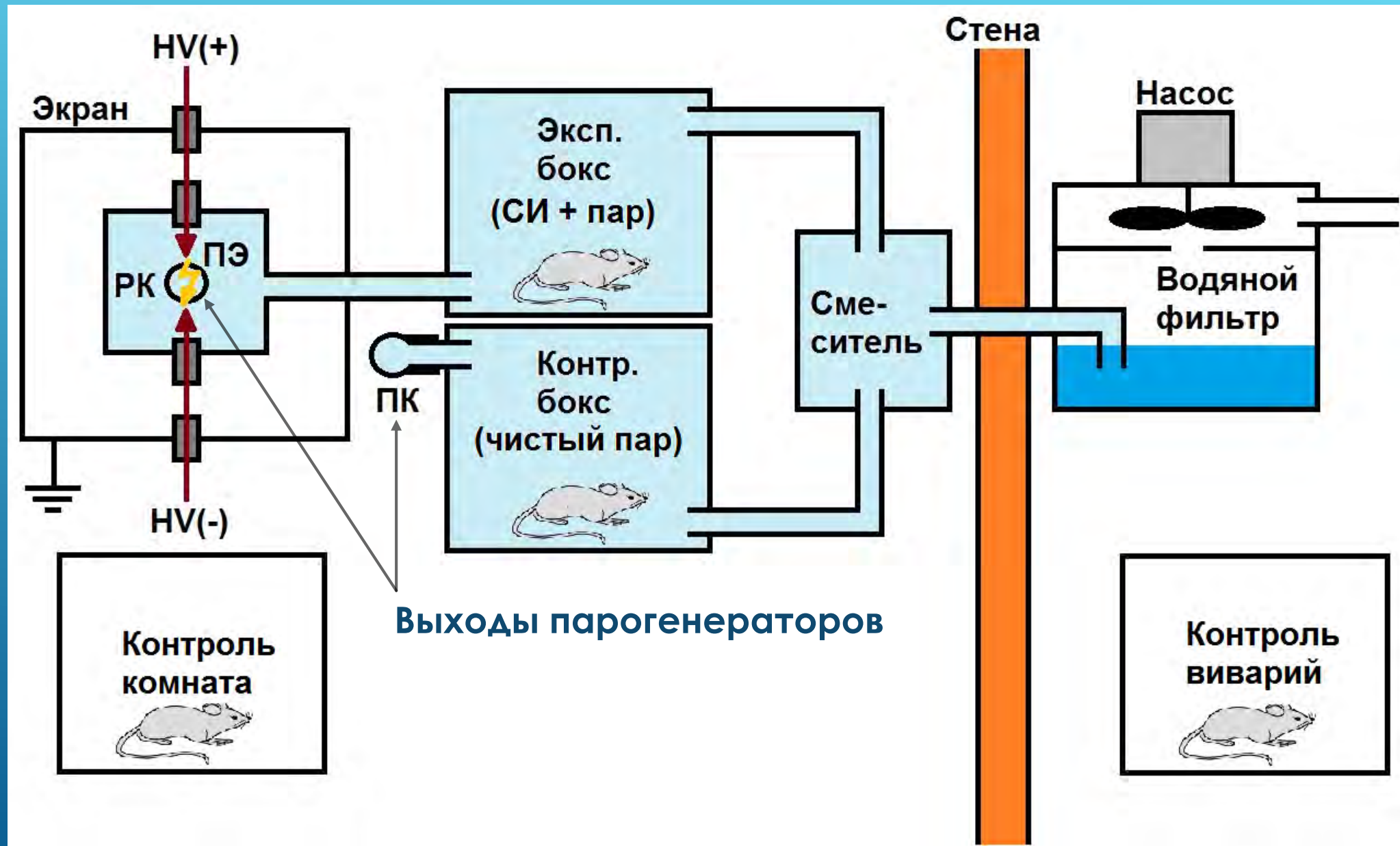


Панчелюга В.А., Заичкина С.И., Дюкина А.Р., Поцелуева
М.М., Ларюшкин Д.П., Степанов И.Н., Панчелюга М.С.,
Тирас Х.П., Зателепин В.Н., Баранов Д.С., Климов А.И.,
Шишкин А.А., Чистолинов А.В., Чепелев В.

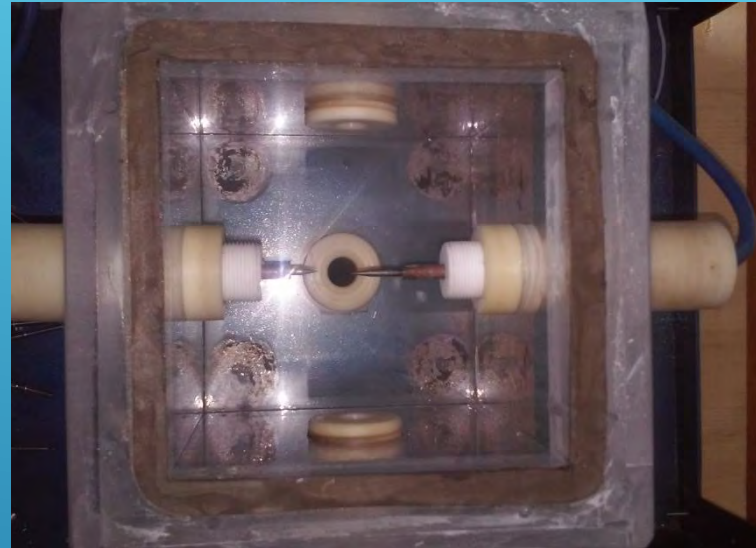
ИНДУКЦИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА У МЫШЕЙ НЕПРЯМЫМ ДЕЙСТВИЕМ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО ПАРА, ПРОШЕДШЕГО ЧЕРЕЗ ВЫСОКОВОЛЬТНУЮ РАЗРЯДНУЮ КАМЕРУ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ОКРЕСТНОСТИ МОЩНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗРЯДА С ПРОТОКОМ ВОДЫ И ПАРА

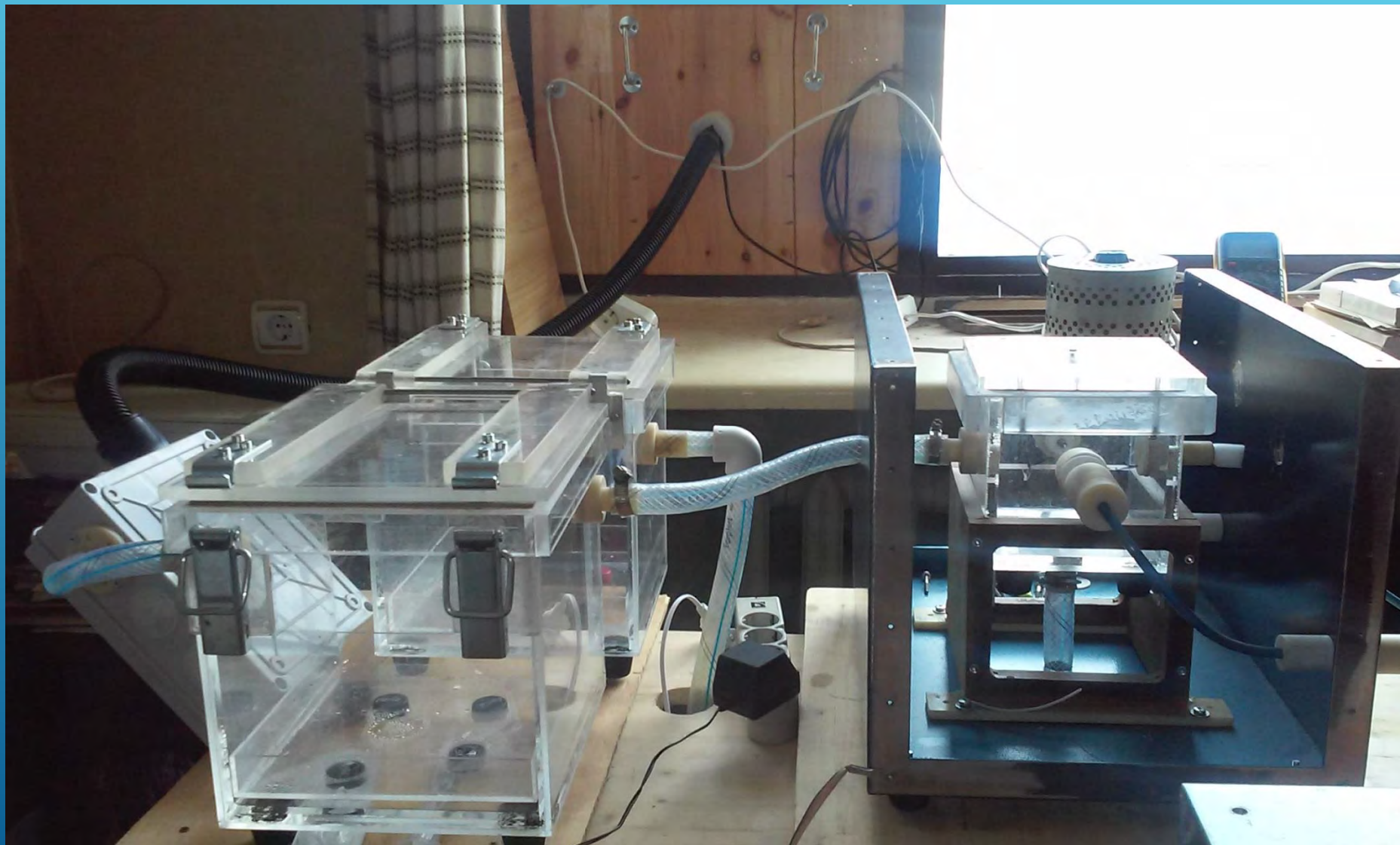
СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УСТАНОВКИ



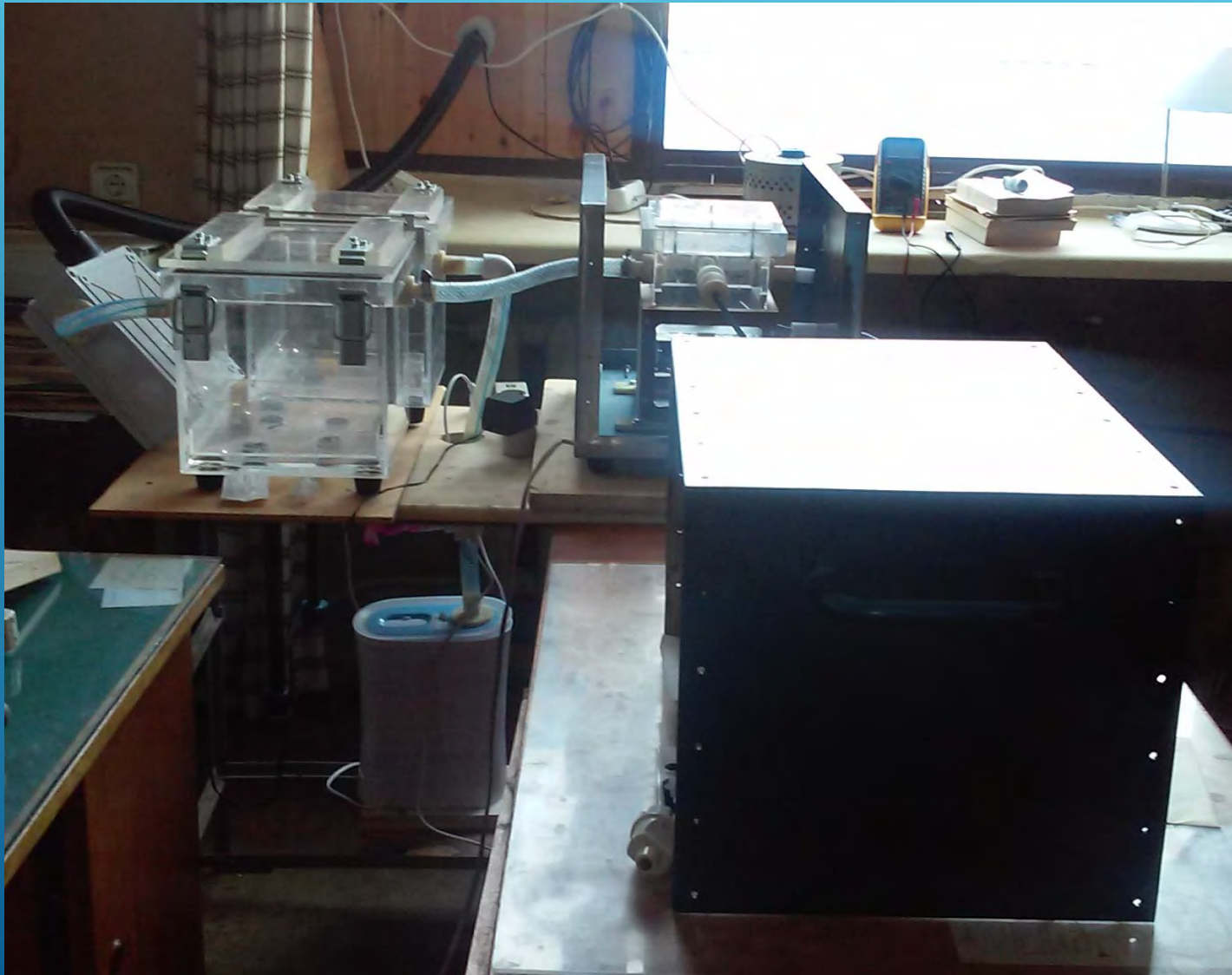
ФОТОГРАФИИ УЗЛОВ УСТАНОВКИ: РАЗРЯДНАЯ КАМЕРА И ВЫСОКОВОЛЬТНЫЙ ИСТОЧНИК ПИТАНИЯ



ФОТОГРАФИИ УЗЛОВ УСТАНОВКИ: ОБЩИЙ ВИД



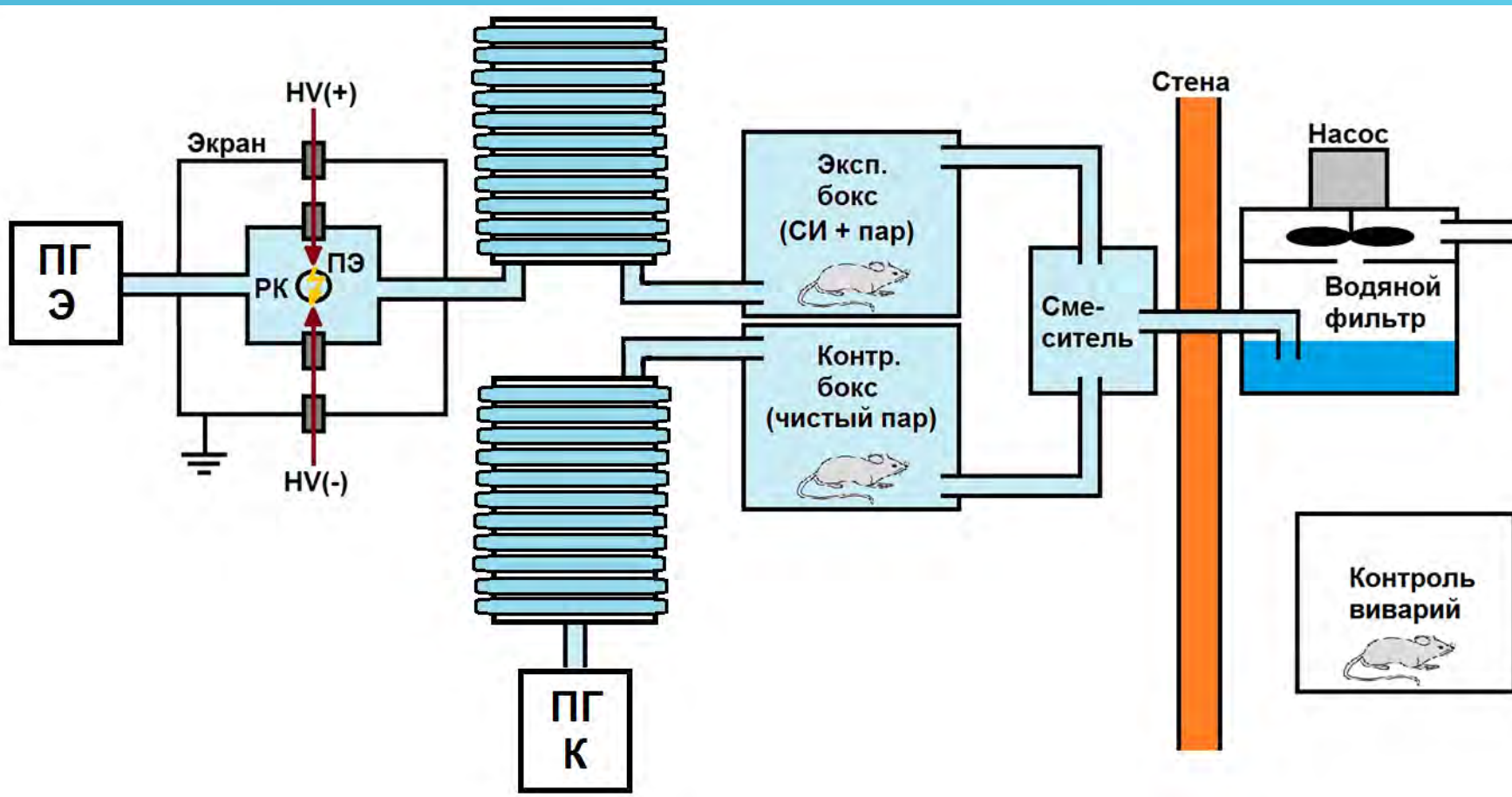
ФОТОГРАФИИ УЗЛОВ УСТАНОВКИ: ОБЩИЙ ВИД И ПАРОГЕНЕРАТОРЫ



ФОТОГРАФИИ УЗЛОВ УСТАНОВКИ: ВОДЯНОЙ ФИЛЬТР И ВЫТЯЖНОЙ НАСОС



СХЕМА МОДЕРНИЗИРОВАННОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УСТАНОВКИ – «ПАРОВЫЕ КАТУШКИ»



БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

- Адаптивный ответ. Уровень цитогенетических повреждений оценивали с помощью подсчета ПХЭ с МЯ в клетках костного мозга. На каждом препарате анализировали не менее 2000 ПХЭ.
- Массу тимуса и селезенки рассчитывали по отношению величины среднего веса органа к величине среднего веса животного в группе.
 - Тимус и селезенка наряду с костным мозгом являются кроветворными органами с активно пролиферирующей тканью, которые быстро реагируют на стрессовые воздействия.
- Уровень продукции АФК в цельной крови измеряли методом люминол – зависимой хемилюминесценции.
 - Известно, что процесс индукции адаптивного ответа включает в себя стимуляцию слабого окислительного стресса с образованием различных активных форм кислорода. В ряде работ показано, что концентрация АФК коррелирует с функциональной активностью организма, поэтому далее мы исследовали методом люминол-зависимой хемилюминесценции уровень продукции АФК в клетках крови предобработанных мышей и затем обученных дозой 1.5 Гр рентгеновских лучей.
- Гематологический анализ крови проводили по стандартной методике, определяли на гематологическом анализаторе крови Beckman Coulter А с *Т.
 - При действии ионизирующего излучения оказывается цитотоксическое действие на организм в целом и на функциональную активность определенных органов и макромолекул. Изменяется формула крови, увеличивается численность лейкоцитов и их способность продуцировать АФК, снижается количество антиоксидантных ферментов в плазме.)

АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ

предварительное облучение объекта в малых адаптирующих дозах приводит к снижению чувствительности к последующему выявляющему воздействию больших доз радиации

Это явление рассматривается как одна из форм защиты клеток от мутагенного действия окислительного стресса, вызванного не только ионизирующей радиацией и химическими агентами, но и соматическими болезнями. Сравнительное изучение коэффициентов защиты клеток человека при обработке различными антимутагенами и при индукции АО показало, что адаптивный ответ дает самый высокий коэффициент защиты.

Явление же, когда адаптирующее и выявляющее воздействия являются факторами разной природы, называется кросс-адаптацией или перекрестным адаптивным ответом. Перекрестная адаптация вероятно, является важнейшим биологическим резервом к повышению устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, а также способом предупреждения возникновения заболеваний.

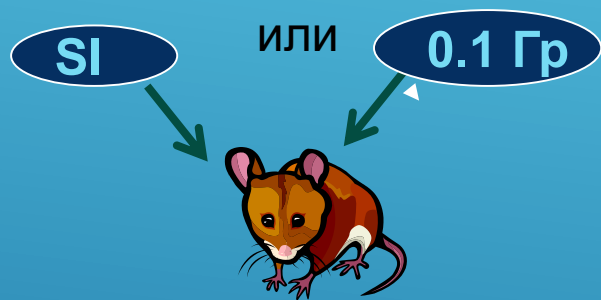
В связи с этим мы выбрали этот метод для обнаружения эффектов при действии странного излучения на мышей.



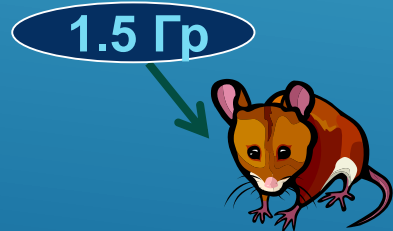
СХЕМА РАДИАЦИОННОГО АДАПТИВНОГО ОТВЕТА

АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ – ЯВЛЕНИЕ, ПРИ КОТОРОМ ВОЗДЕЙСТВИЕ В МАЛОЙ АДАПТИРУЮЩЕЙ ДОЗЕ УВЕЛИЧИВАЕТ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОБЪЕКТА К ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ВЫСОКОЙ ВЫЯВЛЯЮЩЕЙ ДОЗЕ.

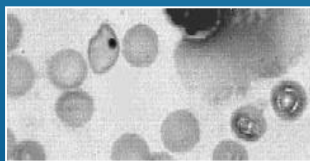
Адаптирующая доза



Выявляющая доза



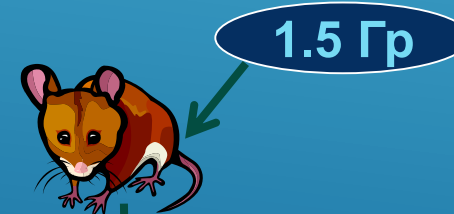
Микроядерный тест T_2



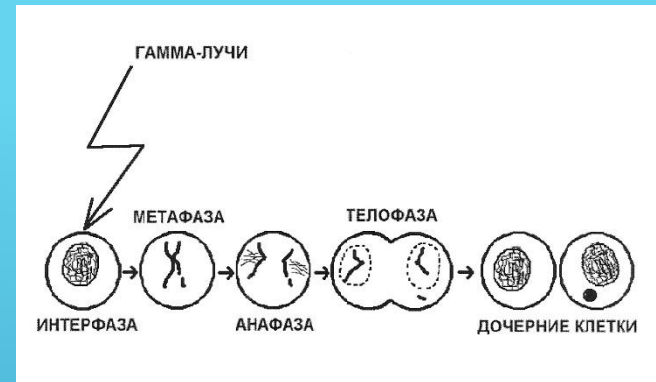
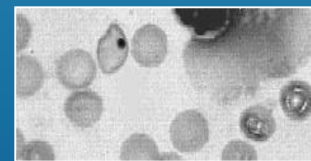
T_1



Выявляющая доза



T_2 Микроядерный тест



Схема, демонстрирующая механизм образования микроядра в клетке в результате повреждающего воздействия

Облучение животных в течение 60 минут 1 и 2 дня (05.07.22)

Группа	Вариант облучения	Число мышей	Число анализ. ПХЭ	Число ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %
I	Чистые, фон	5	5000	17	0.33
II	1.5 Гр	5	5000	337	6.74
III	Контр. 1 день + 1.5 Гр	5	5000	342	6.84
IV	Контр. 2 дня + 1.5 Гр	5	5000	328	6.56
V	Эксп. 1 день +1.5 Гр	5	5000	221	4.42
VI	Эксп. 2 дня +1.5 Гр	5	5000	270	5.4

Облучение животных в течение 60 минут 1 и 2 дня (22.08.22)

Группа	Вариант облучения	Число мышей	Число анализ. ПХЭ	Число ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %
I	Чистые, фон	5	5000	18	0.36
II	1.5 Гр	5	5000	335	6.70
III	Контр. 1 день + 1.5 Гр	5	5000	327	6.54
IV	Контр. 2 дня + 1.5 Гр	5	5000	322	6.44
V	Эксп. 1 день +1.5 Гр	5	5000	238	4.76
VI	Эксп. 2 дня +1.5 Гр	5	5000	327	6.54

Облучение животных в течение 60 минут 1 день (24.08.22)

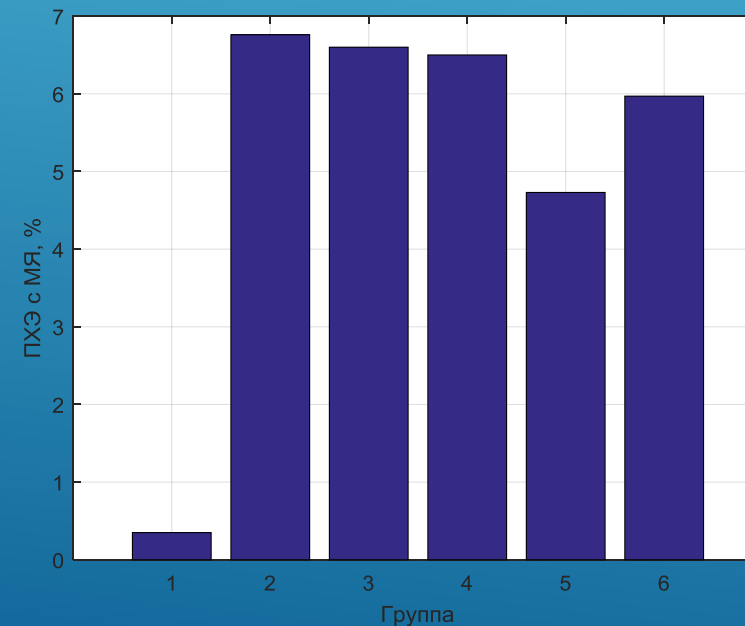
Группа	Вариант облучения	Число мышей	Число анализ. ПХЭ	Число ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %
I	Чистые, фон	5			
II	1.5 Гр	5	5000	343	6.9
III	Контр. 1 день + 1.5 Гр	5	5000	322	6.44
IV	Эксп. 1 день +1.5 Гр	5	5000	250	5

РЕЗУЛЬТАТЫ

При облучении животных в дозе 1.5 Гр наблюдается увеличение цитогенетических повреждений. В группе животных, предоблученных СИ в течение 60 мин однократно, и затем дооблученных в дозе 1.5 Гр наблюдается снижение цитогенетических повреждений, т.е. наблюдается индукция адаптивного ответа. Это говорит о том, что данная доза СИ может находиться в интервале адаптирующих доз, как у ионизирующего излучения (0.05-0.4 Гр).

Однако, облучение животных СИ в течение 2 дней по 60 минут уже не защищало от действия дозы 1.5 Гр. Что указывает на преодоление порога адаптирующей дозы и уже приводит к повреждающим последствиям. Для рентгеновского излучения эта доза от 0.5 Гр.

Предоблучение животных только паром в течение 1 и 2 дней и дополнительное дооблучение в дозе 1.5 Гр не снижало цитогенетических повреждений, т.е. никак не влияло.



БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ОКРЕСТНОСТИ
МОЩНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗРЯДА С
ПРОТОКОМ ВОДЫ И ПАРА



УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА: ГЕОМЕТРИЯ И ВРЕМЯ ОБЛУЧЕНИЯ

12-04-2022

1. клетка Облучение на расстоянии 18 см от Источника1 – облучали 4 раза по 6 минут
2. клетка Облучение около Источника 2 - облучали 2 раза по 6 минут, + поток воздуха с возможными частицами SI. Источник2 располагался на расстоянии 4-5 м от Источника 1. Мыши стояли и при облучении Источником1 все 4 раза по 6 минут
3. клетка Облучение на расстоянии 100 см от Источника1 – облучали 4 раза по 6 минут

П+С – планарии и семена

4. клетка Облучение на расстоянии 18 см от Источника1 – облучали 2 раза по 6 минут.
5. клетка Контроль, ездили в Москву Мышей возили на машине одним днем. По приезду стояли в виварии.

18.04.22

Дооблучение в дозе 1.5 Гр рентгеновским излучением, через неделю после облучения СИ.



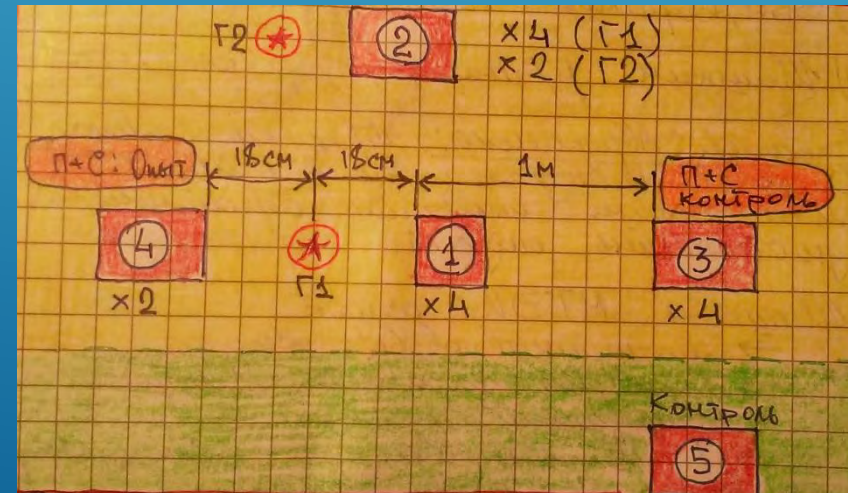
РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Группа	Условия облучения	Число мышей	Число анализ. ПХЭ	Число ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %	Коэфф. адаптивного ответа (АО)
Фоны						
V	Чистые, фон	5	5 000	28	0.56±0.03	
IV	Источник1, 18 см, 2 раза по 6 мин	5	5000	44	0.88	
I	Источник1, 18 см, 4раза по 6 мин	5	5000	43	0.86	
III	Источник1, 100 см, 4 раза по 6 мин	5	5000	29	0.72	
II	Источник2, 2 раза по 6 мин	5	5000	18	0.45	
+ 1.5 Гр						
IX	Источник1, 18 см, 2 раза по 6 мин + 1.5 Гр	5	5000	193	3.86	2.1
VI	Источник1, 18 см, 4раза по 6 мин + 1.5Гр	5	5000	206	4.12	2
VIII	Источник1, 100 см, 4 раза по 6 мин + 1.5 Гр	5	5000	363	7.26	1.14
VII	Источник2, 2 раза по 6 мин + 1.5 Гр	5	5000	333	6.66	1.2
	0.1 Гр + 1.5 Гр	5	10 000	523 (261)	5.23	1.6
X	1.5 Гр	5	5000	414	8.28	

Облучение СИ от Источник1, (18 см, 4раза по 6 мин) и Источник1, (18 см, 2 раза по 6 мин) и последующее дополнительное облучение в дозе 1.5 Гр приводит к уменьшению цитогенетических повреждений в два раза, по сравнению с мышами, облученными только в дозе 1.5 Гр, т.е. индуцировался защитный адаптивный ответ, как и в положительном контроле при предварительном облучении мышей адаптирующей дозой 0.1 Гр рентгеновского излучения и последующей выявляющей дозой 1.5 Гр (0.1 Гр + 1.5 Гр).

Из результатов следует, что Источник1 при облучении на расстоянии 18 см в течении 2 и 4 раз по 6 минут снижал уровень цитогенетических повреждений после воздействия дозы 1.5 Гр, а при облучении на расстоянии 100 см эффект отсутствовал. При облучении Источником2 и дополнительном облучении рентгеном также не наблюдалось влияния на уровень цитогенетических повреждений.

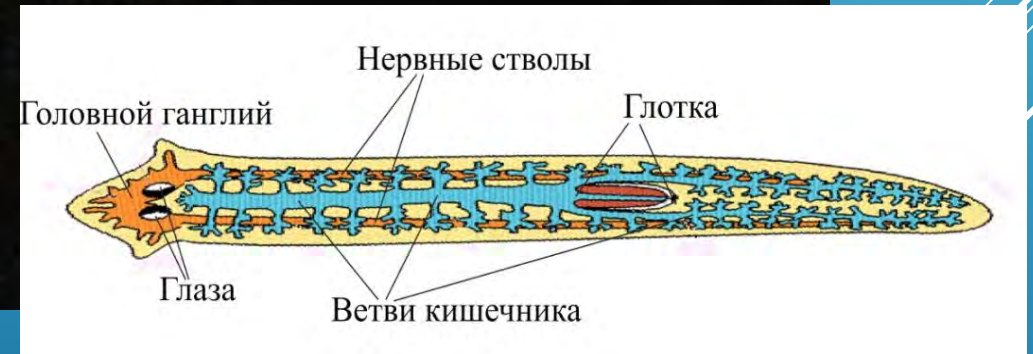
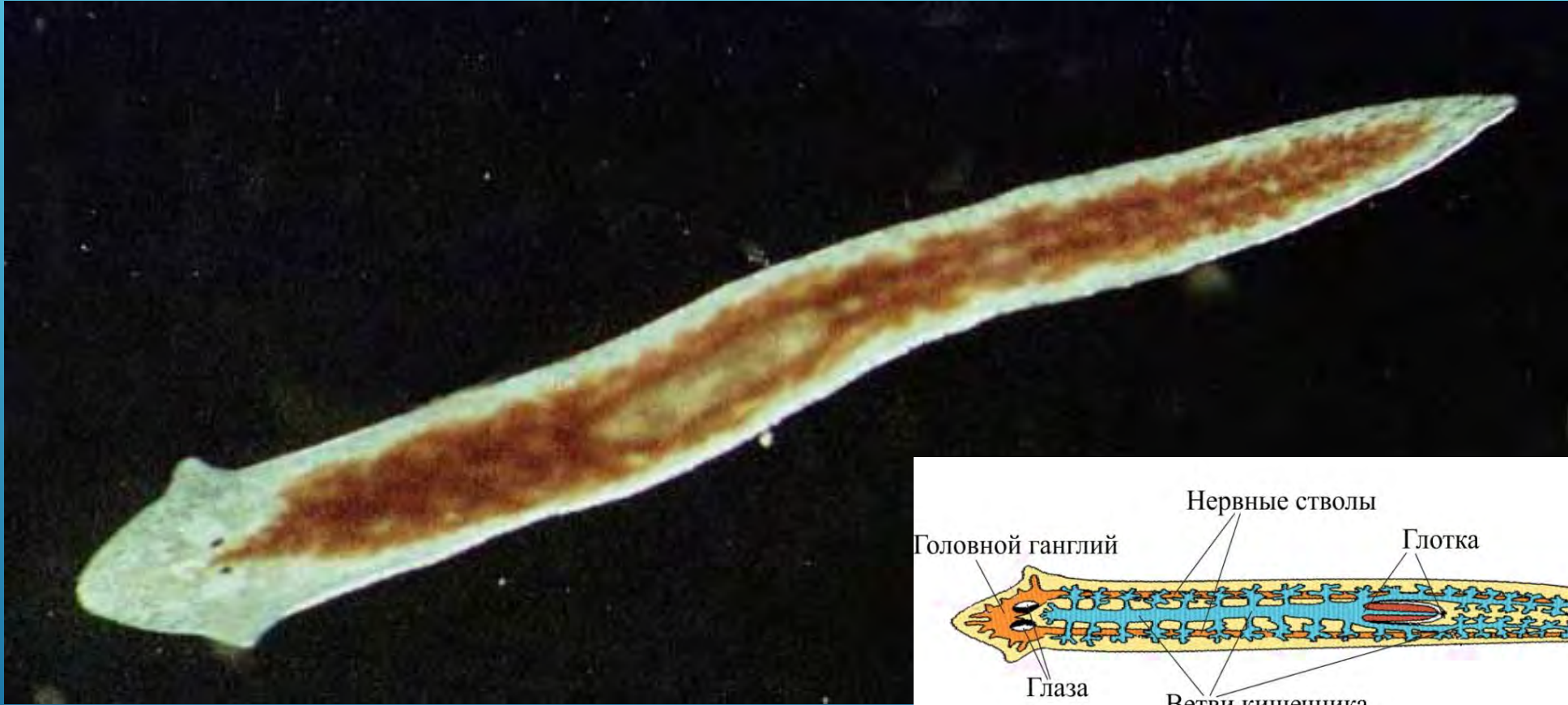
Поскольку ранее нами был обнаружен интервал доз для индукции радиационного адаптивного ответа (0.05-0.4 Гр) рентгеновским излучением, можно было предположить, что индукция адаптивного ответа при облучении СИ Источник1 18 см от 12 до 24 минут по дозе приблизительно попадает в этот интервал, а Источник 1 при 100см и Источник 2, которые не индуцируют АО, находятся вне этого интервала. При этом фоновые значения повреждений без воздействия 1.5 Гр не превышали естественного фона.



ПЛАНАРИИ

- ▶ Чем интересны. Где используются. Роль ИТЭБ. Планарии – генетические клоны 100 планарий, которые были получены прим. 50 лет назад. Бесполоая раса.
- ▶ Использование планарий в ходе исследования сверхслабых воздействий (МП)
- ▶ Важность водной среды в процессе радиационного повреждения (Межклеточная вода является первичным радиобиологическим звеном воздействия различных ионизирующих излучений (рентгеновское и гамма излучение, быстрые электроны, тяжелые ионы, нейтроны). Она ответственна за формирование свободно-радикальных комплексов, обуславливающих 95% радиационных поражений). Вода – участник всех биохимических процессов в организме.
- ▶ Скорость регенерации планарий отражает состояние водной среды.

Пресноводные плоские черви планарии



Girardia tigrina

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ СКОРОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ



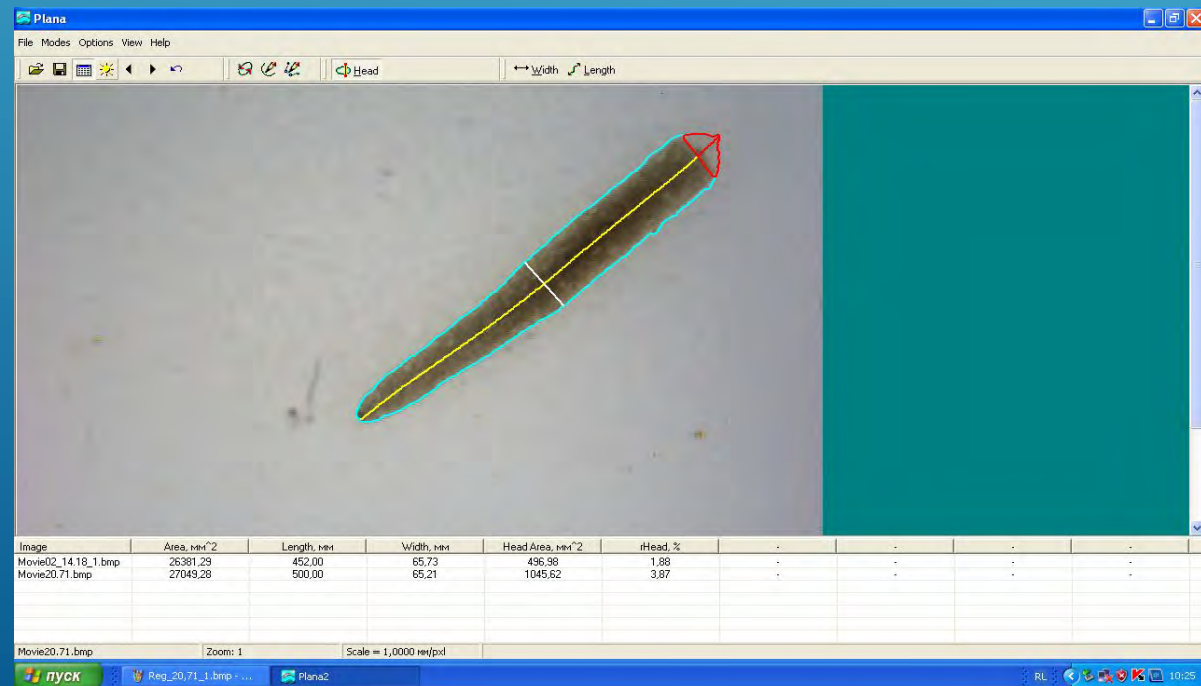
1 мм

Планария
Girardia tigrina
- бесполое животное



Цифровой микроскоп
Stemi 2000,
Видеокамера AxioCam MRc, 1.2 Мр
(Zeiss)

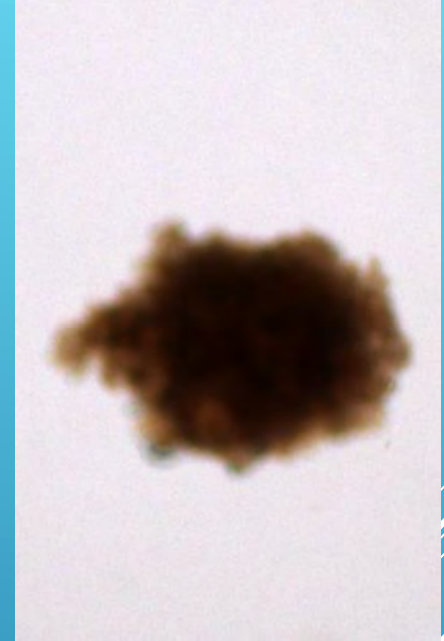
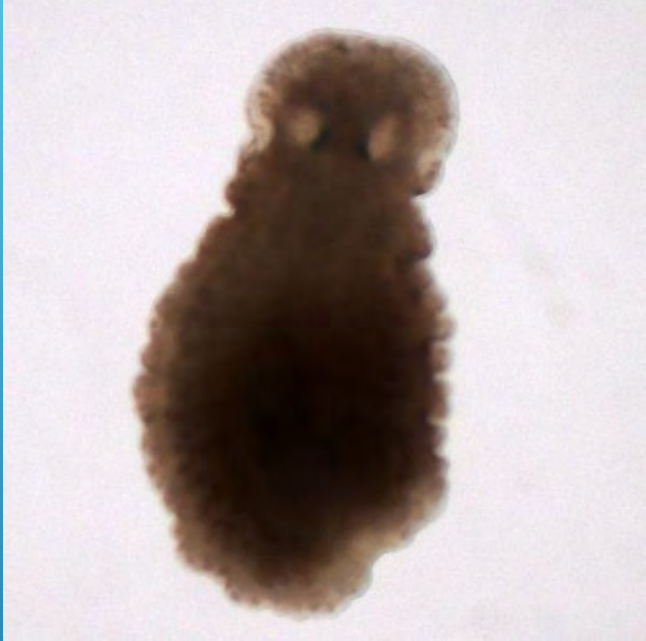
КОМПЬЮТЕРНАЯ ПРИЖИЗНЕННАЯ МОРФОМЕТРИЯ



ЗАМЕЧАНИЯ

- ▶ Слепой эксперимент (в ходе обработки присутствуют субъективные моменты – поэтому все шифруется и что к чему относится – выясняется в конце, когда обработка уже завершена)
- ▶ Индивидуальные ошибки при определении площади планарий 4-7%. Результат зависит от освещенности, от того как человек видит границы. «Спорные» планарии для которых почему-то невозможно точно определить измеряемые параметры выбрасываются из анализа.
- ▶ Прижизненная морфометрия – планария ползает при помощи ресничек. Иногда – движения при помощи мышц.
- ▶ При отращивании бластема не пигментирована – «подарок природы». Пигментация появляется прим. на 4-й день. На 5-й день появляются «глаза».

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБЛУЧЕНИЯ ПЛАНАРИЙ



1. Планарии чувствуют себя не очень хорошо - скрючиваются и не движутся. Такое, практически не наблюдалось ранее.
2. При этом бластема, насколько можно разглядеть, присутствует. Т.е. процесс регенерации присутствует.
3. Очень мало, почти нет хвостовых фрагментов. При этом, на дне флакона много детрита – возможно это остатки хвостовых частей. Есть также много слизи.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ВЫВОДЫ:

- I. Опыт (18см) и контроль (100см) практически не отличаются.
- II. Наблюдаемые результаты 1-3 связаны с изменением свойств водной среды.
- III. Изменение свойств воды, с одной стороны, оказывает **ОЧЕНЬ** сильное негативное влияние на планарий, с другой стороны, есть регенерация – планарии как-то живут.