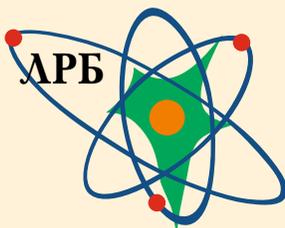


Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ
Научный совет по радиобиологии РАН
Радиобиологическое общество РАН



СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕЙ И КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ

Материалы конференции

Дубна, 12–13 октября 2017 г.

ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КОСМИЧЕСКОЙ
РАДИОБИОЛОГИИ**

Материалы конференции

Дубна, 12–13 октября 2017 г.

Дубна 2017

УДК [577.1+577.391] (042)
ББК 28.072я434+28.089я434
С56

Организационный комитет:

- Красавин Е. А.**, чл.-корр. РАН, директор Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ — председатель
Островский М. А., акад. РАН, ИБХФ РАН, — сопредседатель
Газиев А. И., д-р биол. наук, ИТЭБ РАН
Пелевина И. И., д-р биол. наук, ИХФ РАН
Рубанович А. В., д-р биол. наук, ИОГЕН РАН
Замулаева И. А., д-р биол. наук, МРНЦ Минздрава РФ
Нугис В. Ю., д-р биол. наук, ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России
Штемберг А. С., д-р биол. наук, ИМБП РАН
Кошлань И. В., канд. биол. наук, ЛРБ ОИЯИ
Найдич В. И., канд. хим. наук, ученый секретарь Научного совета РАН по радиобиологии — ответственный секретарь

Современные проблемы общей и космической радиобиологии
С56 (Дубна, 12–13 октября 2017 г.): Материалы конференции. — Дубна:
ОИЯИ, 2017. — 91 с.

ISBN 978-5-9530-0482-4

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Абдуллаев С.А., Минкабиров Г.М., Карманова Е.Е.</i> Метформин увеличивает выживаемость мышей и усиливает экскрецию с мочой внеклеточной ДНК у крыс, облученных рентгеновскими лучами.	7
<i>Асеев Н. А., Смирнов И. В., Балабан П. М., Тимошенко Г. Н., Красавин Е. А.</i> Пилотное исследование электрофизиологических характеристик нейронов виноградной улитки при действии ионизирующей радиации.	8
<i>Базян А.С.</i> Воздействие факторов межпланетных космических полетов в модельных экспериментах на активность модуляторных и медиаторных систем в различных структурах головного мозга млекопитающих, на их эмоциональные и мотивационные состояния, поведение, процессы обучения и памяти.	11
<i>Batmunkh M., Bugay A., Bayarchimeg L., Lkhagva O.</i> Radiation damage to nervous system: simplified neuron models with dendritic spines.	13
<i>Bayarchimeg L., Bugay A., Batmunkh M., Lkhagva O.</i> Analysis of track structure in ion channels and receptors irradiated with charged particles.	17
<i>Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Наседкина Н.В., Малахов Е.П., Голованова О.Ю., Ульянов С.Е.</i> Оценка биологического действия сканирующего протонного пучка при одно- и трехпольном облучениях на опухолевые клетки меланомы В-16.	19
<i>Блохина Т.М., Яшкина Е.И., Осипов А.А., Воробьева Н.Ю., Зорин В.Л., Зорина А.И., Осипов А.Н.</i> Сравнительный анализ индукции одностранных разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК в фибробластах кожи человека при воздействии УФ-А и рентгеновского излучений.	21
<i>Буланова Т.С., Борейко А.В., Заднепрянец М.Г., Йежкова Л., Круглякова Е.А., Смирнова Е.В.</i> Сравнительный анализ индукции и репарации двустранных разрывов ДНК в клетках Пуркинне мозжечка крыс при воздействии γ -квантов ^{60}Co и протонов.	22
<i>Велегжанинов И.О., Ермакова А.В.</i> Эффект радиационно-индуцированного увеличения пролиферативного потенциала фибробластов человека и его возможные механизмы.	23
<i>Велегжанинов И.О., Пылина Я.И., Шадрин Д.М., Рыбак А.В.</i> Программирование радиостойчивости клеток с помощью системы CRISPR/dCAS9.	25
<i>Владимирова-Михалева Л.С.</i> Исследование влияния неионизирующего и ионизирующего излучения на испускание железа.	27
<i>Газиев А.И.</i> Радиационная митохондриальная дисфункция и нейродегенеративные нарушения.	28

<i>Дорожжина О.В., Иванов А.А., Гаевский В.Н.</i> Цитологические и цитогенетические эффекты облучения в широком диапазоне доз.	30
<i>Заднепрянец М.Г., Борейко А.В., Буланова Т.С., Йежкова Л., Красавин Е. А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В.</i> Исследование влияния параметров треков ускоренных ионов с разными физическими характеристиками на эффективность репарации и сложность формируемых ДР ДНК.	31
<i>Колесникова И.А., Буденная Н.Н., Северюхин Ю.С., Молоканов А.Г., Иванов А.А.</i> Влияние нейропептида «семакс» на морфологические изменения нейронов головного мозга мышей при облучении протонами.	32
<i>Корякина Е. В., Потетня В. И., Трошина М. В., Ефимова М. Н., Байкузина Р.М., Лычагин А. А., Ульяновко С. Е.</i> Сравнение биологической эффективности ускоренных ионов углерода и тяжелых ядер отдачи.	35
<i>Кошлань Н.А., Блага П., Богданова Ю.В., Говорун Р.Д., Петрова Д.В., Кошлань И.В.</i> Induction of delayed mutations in v79 cells after irradiation with hze ions.	37
<i>Розанов В.В, Матвейчук И.В., Черняев А.П., Никитина З.К., Гордонова И.К., Литвинов Ю.Ю., Лыкова Е.Н.</i> Возможности снижения дозы при радиационной стерилизации костных имплантатов.	38
<i>Любашевский Н.М., Стариченко В.И.</i> К экспериментальному исследованию долгосрочных проблем космической радиобиологии.	40
<i>Ляхова К.Н., Иванов А.А., Молоканов А.Г, Северюхин Ю.С., Булынина Т.М., Дорожжина О.В., Утина Д.М.</i> Влияние нейропептида «Семакс» на показатели поведенческой исследовательской реакции и силу скелетной мускулатуры мышей, облученных протонами.	43
<i>Минеева О.А., Безряднов Д.В., Ениколопов Г.Н.</i> Обновление предшественников нейронов в гиппокампе мышей после гамма-облучения короткими экспозициями всего тела.	44
<i>Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Васильева И.М., Засухина Г.Д.</i> Некодирующие РНК – модуляторы активности генов при стрессовых воздействиях.	47
<i>Нугис В.Ю., Галстян И.А., Давтян А.А., Козлова М.Г., Никитина В.А.</i> Острый лейкоз через примерно 30 лет после облучения при аварии на Чернобыльской АЭС.	50
<i>Панина М.С., Батмунх М., Бугай А.Н., Пахомова Е.А.</i> Моделирование индукции первичных повреждений ДНК после действия тяжелых ионов с разными физическими характеристиками.	53
<i>Кузнецов Н.В., Панасюк М.И., Подзолко М.В., Попова Е.П.</i> Модель потоков и физические характеристики заряженных частиц галактических космических лучей.	54

<i>Ревизицн А.В., Полетаева И.И.</i> Влияние ионизирующего облучения на поведение лабораторных мышей с оценкой морфологических изменений ЦНС (по результатам первого года работы по проекту 17-29-01001 РФФИ ОФИ).	55
<i>Ракитин С.Б., Ялковская Л.Э., Григоркина Е.Б.</i> Интенсивность мутационного процесса у красной полевки из зоны локального радиоактивного загрязнения.	57
<i>Рождественский Л.М., Михайлов В.Ф., Осипов А.Н.</i> Актуальные направления исследований современной радиобиологии.	60
<i>Северюхин Ю.С., Буденная Н.Н., Тимошенко Г.Н., Иванов А.А.</i> Исследование морфологических изменений и морфометрических характеристик клеток Пуркинье мозжечка крыс в отдаленный период после облучения ионами углерода ^{12}C .	62
<i>Сирота Н.П., Кузнецова Е.А., Митрошина И.Ю., Смирнова Е.Н., Романченко С.П., Дюкина А.Р., Заичкина С.И.</i> Оценка поврежденности ДНК лейкоцитов мышей в разные сроки после воздействия ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/н.	63
<i>Соловьев А.Н., Потетия В.И., Чернуха А.Е., Ульяненко С.Е.</i> Новый подход: расширенная модель выживаемости Обатурова клеток млекопитающих в пучках тяжёлых заряженных частиц с использованием GEANT4.	65
<i>Сорокина С.С., Мальков А.Е., Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н.</i> Влияние малой дозы ускоренных ионов углерода в пике Брэгга на поведение мышей в поздние сроки после облучения.	68
<i>Тереценко Л.В., Буйневич А.В., Латанов А.В.</i> Исследование зрительно-моторного поведения и когнитивных функций у обезьян при воздействии ионизирующих излучений	70
<i>Ушаков И. Б., Федоров В. П., Комаревцев В.П.</i> Моделирование радиационной нагрузки на мозг в длительных космических полетах.	73
<i>Richard B. Hoover and Alexei Yu. Rozanov.</i> Perspectives in astrobiology: microfossils in carbonaceous meteorites	76
<i>Хвостунов И.К., Крылов В.В., Родичев А.А., Кочетова Т.Ю., Шепель Н.Н., Коровчук О.Н., Пятенко В.С., Хвостунова Т.И.</i> Совершенствование индивидуального подхода к оценке побочных радиационных эффектов радиойодтерапии при помощи цитогенетического обследования.	77
<i>Цонев П., Тановска М., Виноградова Ю., Владимирова-Михалева Л., Красавин Е. А., Островский М.А.</i> Исследование ретикулярной активности после облучения.	79
<i>Чаусов В.Н., Борейко А.В., Кожина Р.А., Кузьмина Е.А.</i> Особенности индукции и репарации двунитевых разрывов ДНК в клетках гиппокампа мышей при действии γ -квантов ^{60}Co <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> .	80

<i>Шарапов М.Г., Пеньков Н.В., Новоселов В.И., Брусков В.И., Гудков С.В.</i> Исследование радиозащитных свойств 2-Cys пероксиредоксинов.	81
<i>Балакин В.Е., Шемяков А.Е., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Заичкина С.И., Романченко С.П., Сорокина С.С., Стрельникова Н.С.</i> Применение гипофракционированного режима облучения пучком протонов солидной карциномы Эрлиха у мышей.	83
<i>Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В.</i> Роль исходных показателей липидов в формировании радиационно-индуцированных эффектов в головном мозге мышей.	85
<i>Штемберг А.С., Кохан В.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Шуртакова А.К., Базян А.С., Кудрин В.С.</i> О возможности интерференционного характера взаимодействия нейробиологических эффектов ионизирующих излучений и моделируемой гипогравитации при комбинированном действии этих факторов.	88
<i>Яшкина Е.И., Васильева С.В., Петрищева М.С., Осипов А.Н.</i> Генотоксическая и пролиферативная активность, индуцированная оксидом азота в опухолевых клетках человека.	91

МЕТФОРМИН УВЕЛИЧИВАЕТ ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ И УСИЛИВАЕТ ЭКСКРЕЦИЮ С МОЧОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК У КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ

Абдуллаев С.А.¹, Минкабиров Г.М.¹, Карманова Е.Е.^{1,2}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

²Пушинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия
saabdullaev@gmail.com

Метформин антидиабетическое лекарство, которое обладает также антиканцерогенным и геропротекторным действием и находит применение при лучевой терапии опухолей. В настоящей работе мы исследовали влияние метформина на выживаемость облученных мышей и на образование микроядер в клетках их костного мозга, а также на уровень экскреции внеклеточной ДНК (вк-ДНК) с мочой у облученных крыс, который отражает активацию клеточной гибели в тканях животных. Результаты исследований показали, что метформин оказывает значительный радиозащитный эффект только при его введении мышам сразу после облучения. В этом случае приблизительно 20% мышей оставались живыми в течение 30 суток после их облучения в летальной дозе 8 Гр, при 100% гибели в контрольной группе. Аналогично действует метформин на образование микроядер, их существенное снижение регистрируется только при введении метформина после облучения животных. Эти результаты указывают, что метформин действует как пострадиационный митигационный эффектор. Введение метформина необлученным крысам через 6 часов приводит к увеличению содержания вк-яДНК и вк-мтДНК в моче на 25% и 55%, соответственно. При введении метформина животным сразу после их облучения экскреция вк-яДНК в моче через 6 и 12 часов повышается на 290-300%, а вк-мтДНК на 430-530% относительно данных необлученных крыс. К этим же срокам, после облучения крыс без введения метформина в моче происходит менее выраженное увеличение вк-яДНК 180-200% и вк-мтДНК на 350-400% соответственно. При введении метформина крысам через 24 часа после их облучения, экскреция вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой этих крыс существенно снижается, хотя их уровни остаются выше, относительно данных, необлученных животных, которым вводили метформин. Результаты анализов указывают, что радиомитигаторный эффект метформина на облученных животных, возможно, проявляется посредством митохондриально-направленного механизма. Данные по анализу экскреции вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой облученных животных позволяют предполагать, что метформин также способствует ускоренному удалению поврежденных клеток и дисфункциональных митохондрий из тканей облученных животных посредством активации аутофагии (митофагии).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00832.

ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ.

Асеев Н. А., Смирнов И. В., Балабан П. М., Тимошенко Г. Н., Красавин Е. А.
Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва
Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Одной из актуальных задач в области космобиологии сейчас является подготовка пилотируемой миссии на Марс и другие планеты Солнечной системы. Одной из серьёзнейших нерешённых проблем считается вред здоровью космонавта со стороны высокоэнергетических сильнозаряженных частиц (HZE — ядра бора и более тяжелых элементов) галактического космического излучения. На орбите влияние HZE исследуется в совместном международном эксперименте ALTEA, фокусирующемся на регистрацию зрительных фосфенов у астронавтов, возникающих предположительно при прохождении частицы через голову астронавта. На Земле возможно смоделировать HZE на ускорителях и детально изучить эффекты и клеточные механизмы влияния частиц на ЦНС экспериментальных животных. Фокус данного проекта на изучение влияния ионизирующего излучения на ЦНС животных электрофизиологическими методами (экстраклеточная и внутриклеточная регистрация отдельных идентифицируемых нейронов виноградной улитки).

В первом эксперименте 11-12 марта 2017 г проводился сеанс облучения ЦНС улитки на изохронном циклотроне МЦ-400 Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ. Ускорялись ионы ^{15}N до энергии 46 МэВ/нуклон (полная энергия 690 МэВ). На пути пучка от вывода из ускорителя до мишени (мозга улитки) имеется несколько различных поглотителей (фольги ионопровода, электроды ионизационной камеры, воздух, полистирольная стенка чашки Петри), поэтому энергия ионов азота, падающих на мозг, меньше и равна 38,1 МэВ/нуклон. При толщине мозга 2-3 мм, среднее значение ЛПЭ для этой входной энергии составляет 87,2 кэВ/мкм. Соответственно, для создания в образце дозы 1 Гр через 1 см^2 должно пройти $7,16 \cdot 10^6$ ионов (примерная плотность мозга 1 г/см^3). Мозг улитки облучали дозами от 0,05 Гр до 4 Гр (порциями). Интенсивность пучка (и плотность потока ионов) не является постоянной, а меняется в пределах $(1,5-4,5) \cdot 10^5$ ионов/(см²сек). В связи с вариабельностью мощности пучка набор дозы занимал разное время, от 0.8 секунды до нескольких минут. До и после каждого облучения записывалась спонтанная нейронная активность в нервах в течение 2 минут.

В сеансе 11-12 марта 2017 года всего было облучено 10 препаратов ЦНС улитки. Все препараты ориентировались одинаково, перпендикулярно пучку, чтобы ганглии были в первых 2-3 мм по ходу частиц. В процессе отработки методики регистрировалась активность от разных нервов.

Для основного массива данных было решено регистрировать интестинальный нерв, выходящий из висцерального ганглия ЦНС и иннервирующего внутренние органы улитки. Нейронная электрическая активность, регистрируемая от *n.intestinalis* анализировалась в программной среде Spike2 (CED, UK). Была проведена сортировка по форме и амплитуде спайков (template spike sorting with PCA), которая позволила достоверно выделить в разных записях от 3 до 20 каналов с активностью индивидуальных клеток (single units, суммарно 90 нейронов из 8 препаратов). Для каждого канала программным скриптом было посчитано количество спайков в четырёх одноминутных интервалах — два интервала непосредственно до включения пучка и два интервала сразу после. Такой выбор интервалов для анализа позволял оценить как вариабельность спонтанной активности клеток, так и влияние облучения на неё. Статистическая обработка нейронной активности, регистрируемой от *n.intestinalis* была

проведена в программной среде R. Сравнение нейронной активности в указанных интервалах проводилось методом ранговой ANOVA для четырёх независимых групп с последующим попарным сравнением с поправкой на множественное сравнение (Kruskal-Wallis test: $p=0.95$, Dunn's *post hoc* test with Benjamini-Hochberg (FDR) adjustment: наименьшее значение в парном сравнении $p=0.91$ — нет достоверной разницы между группами). Суммарная активность регистрируемая от нерва также не отличалась между четырьмя выбранными интервалами (Kruskal-Wallis test: $p=0.98$, Dunn's *post hoc* test with Benjamini-Hochberg (FDR) adjustment: наименьшее значение в парном сравнении $p=0.97$; $M_1=156.6\pm 19.4$, $M_2=157.9\pm 20.8$, $M_3=153.8\pm 19.6$, $M_4=154.6\pm 18.2$, спайков в минуту). Для интервалов минута-до и минута-после был также проведён дополнительный t-тест для зависимых переменных, который позволяет выявить более слабые отличия между группами с высокой вариабельностью активности разных нейронов за счёт попарного вычитания. Однако и этот анализ не выявил достоверных отличий в активности клеток сразу после облучения ($M_{до} = 17.22$, $SD_{до} = 14.06$ vs $M_{после} = 17.41$, $SD_{после} = 13.76$, $r = 0.91$; $t(89) = -0.3$, $p = 0.76$). Как вариант анализа в условиях большой вариабельности данных была также проведена их нормализация (активность нейрона за минуту до облучения принята за 100%). Среднее изменение активности после облучения в этом анализе было +12.7%; при этом число клеток увеличивших свою активность больше чем на 10% было 38 из 90, среднее увеличение на 59%. Клеток с уменьшением активности больше чем на 10% было 33 из 90, среднее уменьшение на 33%. Для сравнения, аналогичный анализ двух интервалов до облучения, отражающий общую вариативность нервной активности в данном нерве, дал следующие результаты: среднее изменение активности +13%; при этом число клеток увеличивших свою активность больше чем на 10% было 33 из 90, среднее увеличение на 69.5%. Клеток с уменьшением активности больше чем на 10% было 34 из 90, среднее уменьшение на 33.5%. Таким образом, все изменения активности наблюдаемые после облучения объясняются общей вариативностью активности нейронов во времени и не связаны с облучением.

После облучения препараты мозга улитки в течении суток доставлялись в лабораторию клеточной нейробиологии обучения (ИВНД и НФ РАН, Москва), где при внутриклеточном отведении исследовались мембранный потенциал командных нейронов и способность к образованию облучённым мозгом новой памяти на известной клеточной модели обучения. Одним из ключевых электрофизиологических параметров нейронов является мембранный потенциал (МП). Известно, что у клеток в плохом состоянии модуль МП уменьшается; у клетки не хватает энергии на реполяризацию мембраны, что в конечном счёте приводит её к гибели. В связи с этим, мы измеряли МП у идентифицированных командных нейронов оборонительного поведения спустя ~16 часов после облучения, и нашли его близким к МП контрольных препаратов: для нейронов Па3 МП=-66.3±1.6 мВ (n=7), Па2 МП=-60.4±2.4 мВ (n=3). Стабильность поддержания МП нейронами свидетельствует, что применяемые дозы облучения не приводят к ухудшению состояния и гибели клеток через нарушение мембранной функции клеток. Пилотные эксперименты с более тонким механизмом — фасилитацией постсинаптических ответов на стимуляцию нерва, показывают, что эта функция нейронов нарушается.

Нами была зарегистрирована нейронная активность мозга улитки в процессе облучения ядрами азота; анализ записей не выявил достоверных отличий в спонтанной активности отдельных нейронов и нерва в целом до и после облучения в дозах до 1 Гр. Вызывающая помехи ионизация в процессе облучения и вариабельность мощности пучка при облучении разных препаратов затрудняют анализ активности

непосредственно в процессе облучения; в тех записях, где это возможно было сделать, не наблюдалось значительных изменений активности в регистрируемых нервах.

Последующее изучение облучённых препаратов методом внутриклеточной регистрации показало, что мембранная функция нейронов не нарушалась даже при дозах 5 Гр (МП неотличим от контрольного, способность к генерации спайков при деполяризации). Однако способность к образованию и хранению новой памяти в модели клеточного обучения нарушена — вырабатываемая фасилитация ответов возникает после временной депрессии ответов, и держится только короткое время (меньше 2 часов).

Иммуногистохимическое окрашивание двухпочечных разрывов ДНК в облучённых мозгах улитки не получилось, видимо из-за недостаточной консервативности антигенов γ H2AX и 53BP1 между моллюсками и млекопитающими.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ МЕЖПЛАНЕТНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА АКТИВНОСТЬ МОДУЛЯТОРНЫХ И МЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ, НА ИХ ЭМОЦИОНАЛЬНЫЕ И МОТИВАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ, ПОВЕДЕНИЕ, ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ.

Базян А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Высшей
Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН

Оценивали нейрохимических показателей состояния нейронов после воздействия различными типами облучения. Эта проблема рассматривалась как продолжающаяся исследования последних лет. Расширяющееся использование черепной радиотерапии с протонами и ионами углерода, а также радиационная защита астронавтов требуют понимания биофизических механизмов радиационного поражения центральной нервной системы. Самцов крыс подвергали воздействию пучков протонов с энергией 170 МэВ и ионов 500 МэВ / и ^{12}C , которые были нанесены в дозе 1 Гр. Нейрохимические модификации в структурах головного мозга оценивались по показателям концентрации моноаминов и их метаболитов, измеренным с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Были идентифицированы области мозга, которые чувствительны к облучению протонами и ^{12}C , и исследуются различия между чувствительностью различных структур к этим излучениям. Показано, что префронтальная кора головного мозга поражена в острый период, тогда как гиппокамп и прилежащее ядро сохраняют метаболические изменения через месяцы. В префронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе облучение протонов приводило к изменению отдельных метаболических показателей при одновременном воздействии ионов ^{12}C , что приводило к общему ухудшению процессов метаболизма. В прилежащем ядре и стриатуме ^{12}C ионы вызывают отставленный метаболический ответ, по сравнению с протонами. Были идентифицированы области мозга, которые чувствительны к облучению протонами и ^{12}C , и исследуются различия между чувствительностью различных структур к этим излучениям. Показано, что префронтальная кора головного мозга поражена в острый период, тогда как гиппокамп и прилежащее ядро сохраняют метаболические изменения через месяцы. В префронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе облучение протонов приводило к изменению отдельных метаболических показателей при одновременном воздействии ионов ^{12}C , что приводило к общему ухудшению процессов метаболизма. В прилежащем ядре и стриатуме ^{12}C ионы вызывают отставленный метаболический ответ, по сравнению с протонами. Результаты показывают, что усиление линейной передачи энергии излучения от относительно низких до умеренных значений приводит к различным нейрохимическим состояниям в зависимости от структуры облученного мозга.

Дисфункции центральной нервной системы, вызванные ионизирующим излучением и гипогравитацией, являются ключевым фактором, препятствующим дальним космическим полетам. Хроническая травма ЦНС, вызванная факторами космического полета, вызвала изменения в когнитивных способностях, снижение моторных функций и поведенческих изменений. Здесь мы показываем, что облучение и гипогравитация в модели антиортостатической подвешивания, как отдельно, так и в сочетании, вызывают изменения в серотонинергических и дофаминергических

системах в префронтальной коре, полосатом и гиппокампе, которые сопровождаются поведенческими сдвигами. Мы получили первые доказательства особой природы взаимодействия, то есть интерференции, между отдельными эффектами облучения и факторами гипогравитации в отношении поведения и оборота моноамина мозга, когда эти факторы действуют в сочетании.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29- 01005-офи-м.

RADIATION DAMAGE TO NERVOUS SYSTEM: SIMPLIFIED NEURON MODELS WITH DENDRITIC SPINES.

Batmunkh M.^{1,2}, Bugay A.¹, Bayarchimeg L.¹, Lkhagva O.²

¹ Laboratory of Radiation Biology, Joint Institute for Nuclear Research, 141980, Dubna, Russia

² Division of Natural Sciences, National University of Mongolia, 210646, Ulaanbaatar, Mongolia
batmunkh@jinr.ru

Abstract. Theoretical study of radiation damage to nervous system induced by cosmic rays is very new and challenging topic in modern radiobiological research. To find a way to overcome computational difficulties in this field, we developed simplified neuron models with properties equivalent to realistic neuron morphology for microdosimetry calculations. The algorithm developed in this work is capable to build the uniform random distribution of spines along the dendritic branches in developed geometric model of hippocampal neurons. Three-dimensional structure of simplified and complex models with realistic morphology extracted from experimental data were constructed into the Geant4/Geant4-DNA Monte Carlo radiation transport code. The calculations were made for beams of 170 MeV protons, 290 MeV/u carbon and 600 MeV/u iron ions with same dose corresponding to real fluxes of galactic cosmic rays. The distribution of microscopic energy deposition events and production of oxidative radical species were obtained to be similar in both simplified and realistic models of CA3/CA1 pyramidal neurons and DG granule cells of rat hippocampus following irradiation. Then, more detailed calculation of energy depositions in different layers of hippocampus represented as simplified models is performed. The results obtained and detailed microdosimetry of simplified neuron models are thus opened for understanding the pathologies of irradiated brain neurons.

Introduction. It is widely known that brain cells (neurons) some differ from other cells, which have specialized cell parts called dendrites and an axon in many different shapes and sizes. Most neurons have multiple dendrites, an axon, soma, and dendrites contain specialized structure of numerous dendritic spines. Dendrites with spines are thin and long extend hundreds of microns from the soma that bring electrochemical signals to the soma and axon take information away from the soma. Neuronal injury leading to stop functioning, lose connections with other neurons, and cellular death is likely initiated by structural damage to the treelike dendritic arborization of neurons. Recent experimental studies at particle accelerators has observed that neurochemical alterations, modifications to dendritic morphology, electrophysiological alterations in neuronal cells of hippocampus and prefrontal cortex after exposure to energetic protons and heavy ion beams [1-3].

Construction of simplified neuron models. In the different regions of hippocampus, there are two main types of neuronal cells: 1.2 million granule cells in dentate gyrus region (DG) and 615000 pyramidal cells in cornu ammonis region (CA3/CA1). Each granule cell's soma rested in the cell layer of DG region, while its dendrites the overlying molecular layer of DG region where they receive synaptic connections mainly from the entorhinal cortex (EC) via the perforant pathway. Each pyramidal cell's soma rested in the cell layer of CA region, while its dendrites extended across the strata from oriens layer (basal portion) to radiatum layer and molecular layer (apical portion) where they making synapses with DG and EC. In present work, simplified neuron models were developed for microdosimetric calculations, in order to investigate radiation-induced effects on the electrophysiology of hippocampal neurons at different levels (Figures 1). Simplified model of granule and pyramidal cell extracted from realistic neuron morphology with experimental data at NeuroMorpho.Org repository, and structural construction was adapted into standardized neuromorphometric

format (SWC file). Here, realistic and simplified models of granule cell represented as 451 ± 228 and 9 compartments of soma and dendrites. Pyramidal cell's soma and dendrites represented as 2259 ± 563 compartments for realistic model and 64 compartments for simplified model.

Construction of spines along dendritic branches in neuron models. In order to build dendritic spines along the dendritic branches in developed neuron models, we used the measured spine density [4, 5], which defined as total number of spines per unit length ($10 \mu\text{m}$) of the total dendritic length. The spine density found as 8.2 ± 0.8 for molecular layer of DG granule cell, 8.0 ± 0.6 for oriens layer of CA3-1 pyramidal cell, and 11.3 ± 0.5 for radiatum and molecular layers of CA3-1 pyramidal cell. Each spine described with small cylindrical volume that is randomly pointing perpendicular to the dendrite surface between $0-2\pi$, and located on dendrites as the Gaussian distribution with given spine density. The size of spines was generated from the Poisson distribution in range between $0.3-0.76 \mu\text{m}$ for diameter and $0.9-4.2 \mu\text{m}$ for total length, which were derived from published literatures [6, 7]. The track structure simulations of neuron morphology irradiation were reported previously [8–10], the distribution of microscopic energy depositions and production of water radiolysis species in the vicinity of neuron structures as calculated by the Geant4/Geant4-DNA Monte Carlo radiation transport code.

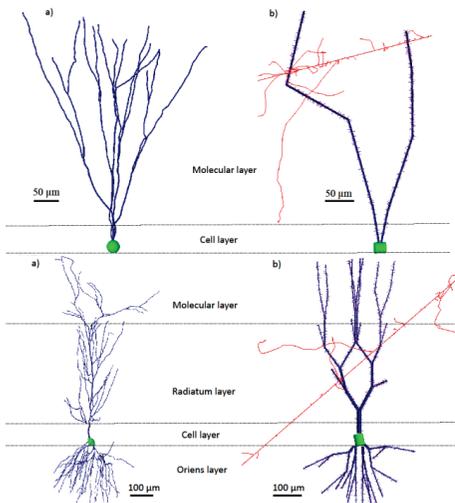


Fig 1. The realistic (a) and simplified (b) model of DG granule cell (left side) and pyramidal cell (right side) of rat hippocampus under irradiation with track structure of 290 MeV/u carbon ion.

Comparison of simple and realistic neuron models for calculation of energy deposition and production of oxidative radical species. In simplified models, 810 spines for DG granule cell and 3582 spines for CA pyramidal cell were constructed using the Poisson and the Gaussian distributions with above-mentioned spine densities. For microdosimetric calculations, total volume of realistic models of DG granule and CA pyramidal cell found as $12455.5 \pm 4395.2 \mu\text{m}^3$ and $34112.5 \pm 9693.7 \mu\text{m}^3$, which are estimated from all hippocampal neurons in the Claiborne archive at the NeuroMorpho.Org repository. Simplified models were constructed with total volume of $11279.7 \mu\text{m}^3$ for DG

granule cell and 31689.6 μm^3 for CA3/1 pyramidal cell. Then, similar distributions of energy deposition events and production of oxidative radical species were obtained in dendrites and soma of both neuron models under exposure to 170 MeV protons, 290 MeV/u carbon and 600 MeV/u iron ions with dose of 0.1 Gy (Figure 2-4).

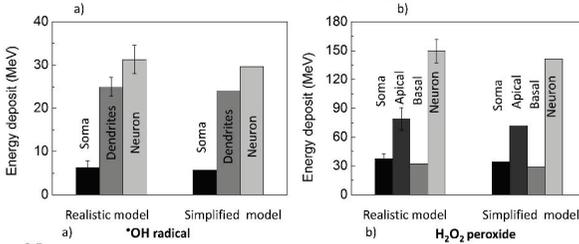


Fig 2. Total energy deposition in realistic and simplified model of DG granule cell (a) and CA3/1 pyramidal cell (b) under exposure to 290 MeV/u carbon ions with dose of 0.1 Gy

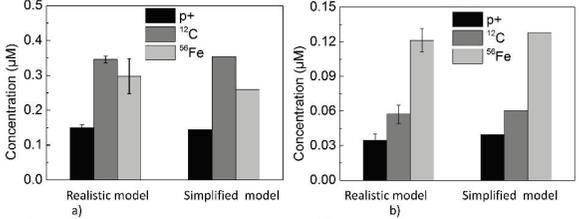


Fig 3. Total concentration of •OH and H₂O₂ in developed models of DG granule cell (a) and CA3/1 pyramidal cell (b) at 1 nanosecond after irradiation with different particles.

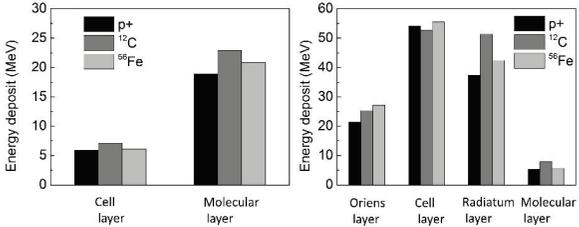


Fig 4. Distribution of energy deposition in different layers of simplified model of DG granule cell (a) and CA3/1 pyramidal cell (b) under exposure to proton and heavy ions.

Conclusions. This study presents the results of developments of simplified neuron models for microdosimetric calculations, in order to investigate radiation-induced effects in the electrophysiology of hippocampal neurons at different levels. The microdosimetric distributions were obtained to be similar in both simplified and realistic neuron models following irradiation. Under exposure to carbon ions, production of hydroxyl ($\bullet\text{OH}$) radicals in DG granule cells more observed than protons and iron ions. Under exposure to iron ions, production of peroxide (H_2O_2) radicals in CA3/CA1 pyramidal cells more observed than protons and carbon ions. We should emphasize that the implementation of realistic morphology has difficulty to develop biological neural networks, and the calculation of electrical activity requires much more computation time-consuming than developed simplified models. The new prospects are thus opened for further development and understanding of electrophysiological behaviour of irradiated hippocampal neurons with the use of simplified models.

References

- [1] D. Greene-Schloesser et al., *Front Oncol.* 2, 73 (2012)
- [2] A. G. Belyaeva et al., *Neurochemical Journal.* 11, 2, 168-175 (2017)
- [3] I.V. Sokolova et al., *Radiat. Res.* 183, 208-218 (2015)
- [4] E. Gould et al., *J. Neurosci.* 10 (4), 1286 (1990)
- [5] E. Gould, M.D. Allan, and B.S. McEwen, *Brain Res.* 525 (2), 327-329 (1990)

- [6] M. Papa, et al., *J. Neurosci.* 15, 1-11 (1995)
- [7] A. Belly et al., *J. Cell Sci.* 123, 2943-2954 (2010)
- [8] M. Batmunkh et al., *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 8, 498–507 (2015)
- [9] O. V. Belov, M. Batmunkh, S. Incerti, and O. Lkhagva, *Physica Medica*, 32, 1510–1520 (2016)
- [10] M. Batmunkh, O.V. Belov, L. Bayarchimeg, and O. Lkhagva, *Mong. J. Phys.* 2, 317-323 (2016)

ANALYSIS OF TRACK STRUCTURE IN ION CHANNELS AND RECEPTORS IRRADIATED WITH CHARGED PARTICLES.

Bayarchimeg L.¹, Bugay A.¹, Batmunkh M.¹, Lkhagva O.²

¹Laboratory of Radiation Biology, Joint Institute for Nuclear Research, 141980, Dubna, Russia

²Division of Natural Sciences, National University of Mongolia, 210646, Ulaanbaatar, Mongolia

bayarchimeg@jinr.ru

The voltage-gated ion channels and synaptic receptors are nerve cells critical sites, which plays an important role in generation and propagation of action potential spikes, regulation of learning and memory in the central nervous system. Development of theoretical models for detailed understanding the molecular mechanisms of that critical sites irradiation is an extremely important task in the neuro-radiobiological effects of space-born charged particles. Accordingly, we develop a modeling approach designed for prediction of radiation-induced direct and indirect effects to voltage-gated ion channels and synaptic receptors constructed by using experimental data on molecular structure together with computational tools.

Damage to a biological target by ionizing radiation can result direct hits by ionisations and indirect hits by free-radicals produced in the condensed medium surrounding the sensitive molecular target. The Monte Carlo track-structure simulation technique is a suitable tool for simulating energy deposition events and production of reactive chemical species produced by water radiolysis in biological medium following irradiation. In this work, theoretical model of Geant4-DNA toolkit [1], atomistic-resolution models of the molecular geometry and the nearest neighbour algorithm has been used. We had considered three main types of (NMDA, AMPA and GABA_A) receptors and voltage-gated ion channels (K⁺, Na⁺ and Ca²⁺) from the PDB databank for this simulation. Mature subunits of designated receptors and ion channels contains 388-3048 amino acid residues in length. The chosen molecular target is simulated into a center of a virtual sphere with diameter of 100 nm, that filled with non-structured water. The incident particle is generated from the sphere surface and uniformly directed towards the molecular target. The computations were performed for protons and iron ions with different energies within range of the Bragg peak region.

As a damaging factor, the mean number of direct hits by physical interactions with non-zero energy depositions and indirect hits by chemical interactions with water radiolysis species calculated for the critical sites of chosen molecular targets following irradiation with selected particles. In this case, one direct hit is counted when an interaction (ionization, excitation or elastic collision) occurs within the van der Waals radius around any of the atoms conforming the molecular target and one indirect hit is counted when production of reactive chemical species (hydroxyl radical, [•]OH) occurs within the barycenter radius around any of the amino acids conforming the molecular target. As an example of obtained results in NMDA receptor (Figure), the mean number of ionisation cluster and its direct hit were calculated as 17.8 ± 12.6 and 6.3 ± 4.6 , and the mean number of hydroxyl cluster and its indirect hit were calculated as 37.2 ± 23.4 and 11.9 ± 9.7 at 1 nanosecond after 1 MeV proton irradiation. Afterwards, the corresponding hit-probabilities have been calculated as 2.1×10^{-3} for direct hit (35 % of total hit) and 3.9×10^{-3} for indirect hit (65 % of total hit) to NMDA receptor with 3048 amino acids.

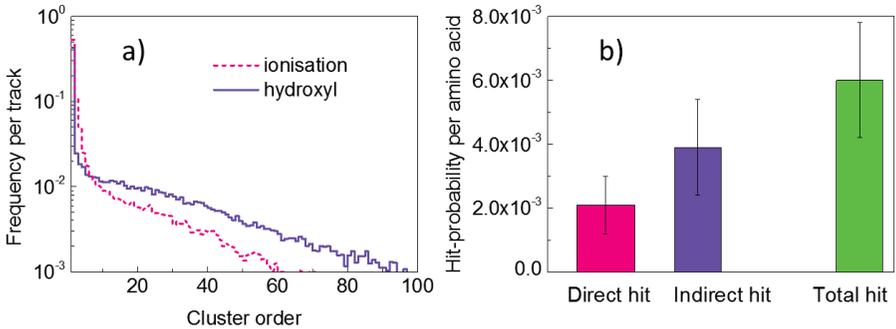


Figure 1. Frequency distribution of ionization cluster and hydroxyl cluster in NMDA receptor after 1 MeV proton irradiation (a). Probability of direct and indirect ionisations and hits by hydroxyl radicals in NMDA receptor (b). Note that cluster order equals the number of only ionisation events or hydroxyl ($\cdot OH$) radical within NMDA receptor.

Performed theoretical simulations with the use of nanodosimetry allow to observe direct ionisations and indirect free-radicals in the vicinity of voltage-gated ion channels and synaptic receptors following irradiation. The data produced of hit-probabilities is of particular importance for understanding the initial molecular damages at the synaptic level leading to further dysfunction of nerve cell signaling and plasticity under irradiation. Our results confirm experimental findings, which suggest that NMDA[2] and GABA receptors[3] and Na^+ ion channels[4] belong to the most probable molecular targets of heavy ion irradiation in nerve cells.

References

- [1] S. Incerti *et al.*, “Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water.,” *Med. Phys.*, vol. 37, no. 9, pp. 4692–4708, 2010.
- [2] M. Machida, G. Lonart, and R. A. Britten, “Low (60 cGy) Doses of ^{56}Fe HZE-Particle Radiation Lead to a Persistent Reduction in the Glutamatergic Readily Releasable Pool in Rat Hippocampal Synaptosomes,” *Radiat. Res.*, vol. 174, no. 5, pp. 618–623, 2010.
- [3] R. A. Britten *et al.*, “Exposure to Mission Relevant Doses of 1 GeV/Nucleon ^{56}Fe Particles Leads to Impairment of Attentional Set-Shifting Performance in Socially Mature Rats,” *Radiat. Res.*, vol. 182, no. 3, pp. 292–298, Jul. 2014.
- [4] M. J. Mullin, W. A. Hunt, and R. A. Harris, “Ionizing radiation alters the properties of sodium channels in rat brain synaptosomes,” *J Neurochem.*, vol. 47, no. 2, pp. 489–495, 1986.

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОННОГО ПУЧКА ПРИ ОДНО- И ТРЕХПОЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИЯХ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ В-16

Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Наседкина Н.В., Малахов Е.П., Голованова О.Ю.,

Ульяненко С.Е.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России,

Обнинск, Россия

beketov.ee@yandex.ru

В настоящее время одним из наиболее эффективных методов терапии больных со злокачественными образованиями является протонная терапия. Это связано со специфическим дозовым распределением протонов – наличием пика Брэгга, который позволяет снижать степень облучения здоровых тканей, и практически вся доза облучения приходится на опухоль. Поскольку в разных терапевтических центрах применяются различные системы модуляции пучка, до его клинического использования требуется независимая индивидуальная радиобиологическая оценка ОБЭ источника протонов.

Целью данной работы было получение оценочных значений ОБЭ для сканирующего пучка протонного комплекса на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России при одно- и трехпольном облучениях. В качестве экспериментальной тест-системы использовали клетки мышинной меланомы V16F10, которые облучали в суспензии в микроцентрифужных пробирках. Облучение проведено на протонном комплексе «Прометеус» и гамма-установке «Луч». Дозы гамма-излучения составили: 2, 4, 6, 8, 10 Гр, мощность дозы ~ 1 Гр/мин. Диапазон доз протонного излучения: 2-8 Гр, мощность дозы ~ 2 Гр/мин. Средний поток протонов по энергиям составил $4,6 \cdot 10^{10}$ и $4,9 \cdot 10^{10}$ частиц при однопольном и трехпольном облучениях, соответственно. В зависимости от энергии пучка его диаметр варьировал от 3,7 до 6,8 мм. При однопольном облучении среднее значение энергии частиц составило 78,9 МэВ. В случае трехпольного облучения – 82,5, 74,5 и 78,1 МэВ при угле 0, 90 и 180°, соответственно.

Облучение протонами проводили в водном фантоме, располагая пробирку вертикально в его центре. Расстояние от внешней стенки фантома до центра пробирки составило для всех направлений 4,5 см (включая 4 мм стенки из оргстекла и по 1 мм стенки пластиковой пробирки и питательной среды). Гамма-квантами пробирки облучали на столе в горизонтальном положении без фантома. Перед облучением суспензию встряхивали.

До и после облучения клетки держали на льду (что необходимо для снижения уровня метаболизма). Для оценки конечного эффекта использовали метод клоногенной активности – определяли способность одиночных клеток формировать крупные (видимые невооруженным глазом) колонии. Эксперимент был проведен в четырех повторностях. Дозовые зависимости строили по линейно-квадратичной модели (1).

$$S = 100 \cdot \exp(-\alpha \cdot x - \beta \cdot x^2) \quad (1)$$

Полученные результаты выживаемости облученных клеток представлены на рисунке.

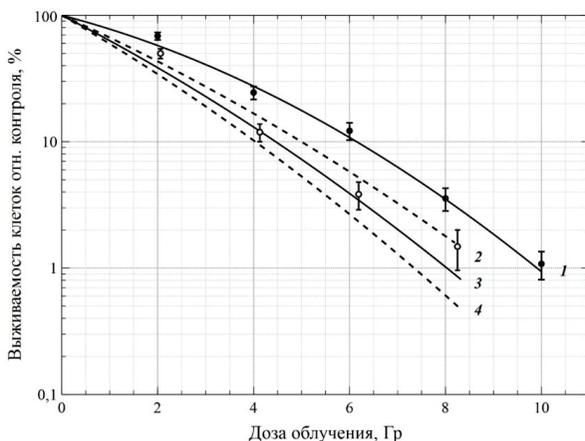


Рис. 1 - γ -облучение, 2 – протоны при однополюсном облучении, 3 – объединенные данные по протонам, 4 – протоны при трехполюсном облучении

Рассчитанные на основе приведенных кривых значения ОБЭ на уровне 10% выживаемости составили $1,2 \pm 0,1$ для однополюсного облучения, $1,5 \pm 0,2$ при трехполюсном облучении. Согласно уже имеющимся в литературе данным (для культуры клеток меланомы В-16) [Ibanez et al., 2009] ОБЭ протонов (на уровне выживаемости 10%) в области плато составляет 1,0, а в пике Брэгга – 1,6. С учетом того, что в нашем исследовании был использован сканирующий пучок, усредняющий величины линейной передачи энергии, можно считать, что полученные в настоящем исследовании данные хорошо дополняют те, что уже представлены в научной литературе.

Таким образом, показатели ОБЭ протонов сканирующего протонного пучка при одно- и трехполюсном облучениях имеют незначительное отличие от общепринятого значения – 1,1 [Paganetti, 2014].

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНДУКЦИИ ОДНОНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ И ЩЕЛОЧНОЛАБИЛЬНЫХ САЙТОВ ДНК В ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УФ-А И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЙ.

Блохина Т.М., Яшкина Е.И., Осипов А.А., Воробьева Н.Ю.,

Зорин В.Л., Зорина А.И.*, Осипов А.Н.*

ФГБУ ГНЦ Федеральный Медицинский Биофизический Центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва, Россия, trasy9wind@mail.ru

* Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия

Основное внимание исследователей биологических эффектов ультрафиолетового (УФ) излучения долгие годы было сосредоточено на коротковолновом (менее 280 нм) излучении, вызывающим серьезные повреждения ДНК и других макромолекул, но почти полностью поглощаемого озоновым слоем земли. УФ излучение с длинами волн 315-400 нм (согласно международной классификации - УФ-А), более 90% которого достигает земной поверхности, считалось относительно безвредным. Однако результаты исследований, сделанных в последние десятилетия, заставляют пересмотреть представления как о механизмах его биологического действия УФ-А излучение, так и о последствиях его воздействия для человека. Длительное воздействие УФ-А излучения вызывает лизосомальную дисфункцию в фибробластах кожи человека, онкотрансформацию в культивируемых кератиноцитах человека и развитие сарком кожи у «голых» мышей. Показана положительная корреляция между количеством посещений солярия и частотой меланом у человека. К сожалению, влияние УФ-А на ДНК живых клеток до сих пор изучено недостаточно. Особый интерес вызывает изучение особенностей УФ-А индуцированных повреждений ДНК в фибробластах кожи человека. В ходе нашей работы был проведен сравнительный анализ индукции одонитевых разрывов (ОР) и щелочнолабильных сайтов (ЩС) ДНК в фибробластах кожи человека при воздействии 365 нм УФ (дозы 0,5-20 кДж/м²) и рентгеновского (дозы 0,5-5,0 Гр) излучений. Рентгеновское излучение было выбрано в качестве референтного воздействия из-за хорошей изученности его повреждающего действия на ДНК. Исследования были выполнены на первичных культурах фибробластов, выделенных из биоптатов кожи здоровых добровольцев (мужчины 50-52 лет), подписавших информированное согласие. Для изучения изменений уровня повреждений ДНК использовался метод гель-электрофореза иммобилизованных в агарозу единичных клеток (метод ДНК-комет) в щелочных условиях. Количество повреждений ДНК, определяемых этим методом, пропорционально количеству мигрировавшей из ядерной области ДНК и расстоянию ее миграции при проведении электрофореза ДНК иммобилизованных в агарозу и лизированных единичных клеток. Показано, что количество УФ-А-индуцированных повреждений ДНК возрастает линейно с увеличением дозы. Количественный выход ОР и ЩС ДНК после воздействия УФА-излучения в дозе 7,5 кДж/м² соответствовал количеству этих повреждений, вызванных воздействием рентгеновского излучения в дозе 1 Гр. ДНК-комет анализ повреждаемости ДНК фибробластов кожи человека УФ-А-излучением в системах *in vitro(ex vivo)* может быть использован для диагностической оценки индивидуальной чувствительности человека к воздействию УФ-А-излучения.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНДУКЦИИ И РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В КЛЕТКАХ ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ γ -КВАНТОВ ^{60}Co И ПРОТОНОВ.

Буланова Т.С.^{1,2}, Борейко А.В.^{1,2}, Заднепрянец М.Г.^{1,2}, Йежкова Л.¹, Круглякова Е.А.^{1,2}, Смирнова Е.В.¹

¹Объединенный институт ядерных исследований

²Государственный университет «Дубна»

Одним из главных факторов, ограничивающих дальность космических полетов, является космическая радиация, состав которой на 92% определяется протонами высоких энергий. Воздействие космической радиации может приводить к модификациям высших интегративных функций космонавтов, что может снизить вероятность успешного выполнения миссии.

Целью данной работы является изучение закономерностей формирования двуниевых разрывов (ДР) ДНК *in vivo* в нейронах мозжечка крысы, особенности тканевой организации которого, позволяют проводить количественные оценки повреждающего действия излучений на нейроны, прежде всего, на клетки Пуркинью при действии γ -квантов ^{60}Co и протонов с энергиями 170 МэВ и 150 МэВ. Оценка формирования ДР ДНК в клетках Пуркинью выполнена на основе анализа формирования радиационно-индуцированных γH2AX и 53BP1 фокусов (РИФ). Как известно, ДР ДНК, возникающие в результате воздействия ионизирующего излучения, вызывают фосфорилирование гистона H2AX и инициирует миграцию ряда репарационных белков таких, как 53BP1 к ядерным фокусам поврежденной ДНК, где эти белки колокализуются и взаимодействуют с γH2AX . Количественная оценка возникающих фокусов белков репарации ДНК в геноме клеток позволяет судить о формировании ДР ДНК в нейронах различных тканей ЦНС. Методом иммуногистохимического окрашивания изучена репарация двуниевых разрывов ДНК на парафиновых срезах мозжечка крысы после воздействия γ -квантов ^{60}Co и протонов.

При воздействии γ -квантов ^{60}Co в пострadiационный период отмечается значительное снижение количества РИФ и к 24 ч приближается к контрольному уровню. Установлено, что количество $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ фокусов снижается по экспоненциальной кинетике как при облучении γ -квантами, так и ускоренными протонами. Анализ формирования РИФ 53BP1/ γH2AX , проведенный на ядрах клеток Пуркинью в XYZ геометрии флуоресцентных изображений нейронов коры мозжечка, показал, что зависимость количества $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ фокусов от дозы облучения имеет линейный характер. Показано, что размер РИФ при действии протонов достоверно выше по сравнению с γ -квантами ^{60}Co . Отмечено, что количество и размер 53BP1/ γH2AX фокусов в нейронах мозжечка варьирует в зависимости от типа клеток. Проведен качественный анализ кинетики репарации в ядрах клеток Пуркинью после воздействия протонов с энергией 150 МэВ в дозе 3 и 5 Гр.

ЭФФЕКТ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ.

Велегжанинов И.О., Ермакова А.В.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия,
vellio@yandex.ru

Ионизирующее излучение (ИИ) в высоких дозах вызывает преждевременное наступление клеточного старения и подавляет пролиферацию клеток млекопитающих. Однако, за последние три десятилетия было многократно показано, что облучение в малых дозах, как острое, так и хроническое, может активировать сигнальные каскады MAPK/ERK и PI3K/AKT/mTOR, приводя к стимуляции пролиферации клеток. В то же время, остаётся почти не исследованным влияние ИИ в малых дозах на скорость клеточного старения нормальных не трансформированных клеток. В связи с этим, мы поставили перед собой цель проанализировать, не приводит ли радиационно-индуцированная стимуляция пролиферации к ускорению истощения пролиферативного потенциала и раннему наступлению клеточного старения. Мы облучили эмбриональные фибробласты лёгких человека (ФЛЭЧ-104) на 21-23 пассажах в дозах 1, 3, 5, 9, 12, 15, 20, 50, 100 и 200 сГр и проанализировали динамику накопления стареющих клеток в облучённых культурах в плоть до полной остановки роста. Долю стареющих клеток оценивали с помощью окрашивания X-gal. Кроме того, с помощью ОТ-ПЦР оценивали экспрессию генов *p21* и *p19*. В аналогичной серии экспериментов анализировали динамику пролиферации клеток путём оценки роста культуры простым подсчётом, а также с помощью метода FMCA. В результате исследований было впервые показано, что однократное облучение на ранних пассажах в дозах 3 и 5 сГр приводит к замедлению клеточного старения фибробластов лёгких эмбриона человека и одновременной отдалённой стимуляции пролиферации, то есть к увеличению пролиферативного потенциала. При этом, стимуляция пролиферации непосредственно после облучения в дозе 3 сГр не наблюдалась, а облучение в дозе 5 сГр, подобно облучению в дозе 2 Гр, приводило к торможению деления клеток в первые 48 часов. Примечательно, что не смотря на отсутствие отдалённых эффектов облучения в дозах 9, 12, 15, 20, 50 и 100 сГр на пролиферацию фибробластов, воздействие в дозе 2 Гр, так же как и воздействие в дозе 3 сГр приводило к снижению доли стареющих клеток через 30-37 дней культивирования. Однако в отличие от культур, облучённых в дозе 3 сГр, культуры, облучённые в высокой дозе, раньше достигали полной остановки роста.

Для того, чтобы оценить возможную роль изменения активности сигнального каскада MAPK/ERK в отдалённой стимуляции пролиферации и замедлении клеточного старения после однократного воздействия ИИ в малых дозах с помощью иммуноферментного анализа мы проанализировали общий уровень и уровень фосфорилированной формы белков ERK1 и ERK2 через 30 суток после облучения фибробластов в дозах 3 и 5 сГр, а так же 2 Гр. Результаты свидетельствуют об отсутствии различий в соотношении двух форм белков в контрольной и облучённых культурах. В то же время добавление в момент облучения в питательную среду специфических ингибиторов сигнальных каскадов MAPK/ERK (U0126) и PI3K/AKT/mTOR (LY294002) как вместе, так и по отдельности приводит к отмене описанных выше радиационно-индуцированных эффектов, но при этом драматически изменяет динамику пролиферации фибробластов без воздействия облучения.

Ранее нами была показано, что облучение в дозе 3 сГр активирует репарацию повреждений ДНК значительно больше, чем облучение в диапазоне 5-20 сГр, и почти наравне с облучением в дозе 2 Гр. В связи с этим одним из механизмов радиационно-

индуцированного увеличения пролиферативного потенциала может быть снижение частоты стресс-индуцированного преждевременного клеточного старения.

Таким образом, нами впервые показано, что однократное облучение эмбриональных фибробластов человека в дозах 3 и 5 сГр может приводить к увеличению их пролиферативного потенциала, рассмотрены вероятные механизмы данного феномена.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 16-34-00367.

ПРОГРАММИРОВАНИЕ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR/dCAS9.

Вележжанинов И.О., Пылина Я.И., Шадрин Д.М., Рыбак А.В.
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия,
vellio@yandex.ru

Развитие технологий управления радиоустойчивостью клеток млекопитающих является одной из приоритетных задач современной радиационной биологии. Владение такими технологиями позволит увеличить эффективность радиотерапии онкологических заболеваний и снизить побочные эффекты лечения, конструировать высокоустойчивые к генотоксическим стрессам клетки-продуценты. В отдалённой перспективе повышение устойчивости к ионизирующим излучениям путём генотерапии может быть необходимым для длительных космических экспедиций. Развитие технологий редактирования геномов и транскрипционного программирования в совокупности с накоплением знаний о функциях генов и построением сетей генных взаимодействий открывает все больше потенциальных возможностей для целенаправленного управления свойствами клеток и организмов. В частности, для управления устойчивостью к ионизирующим излучениям и другим генотоксическим агентам. Однако для достижения данной цели необходимо накопления массива экспериментальных данных об изменениях устойчивости к действию генотоксических агентов на фоне подавления или сверхэкспрессии определённых генов. В недавнее время, расшифровка биологического смысла коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPRs), встречающихся в геномах некоторых бактерий привела к открытию бактериальной системы защиты от вирусов, основанной на способности некоторых нуклеаз (в частности Cas9) распознавать мишень с высокой точностью с помощью короткой молекулы РНК, транскрибирующихся с CRISPRs (гРНК). Создание мутантной формы белка dCas9, способной распознавать участок генома, комплиментарный гРНК, но не вносить разрез, позволило доставлять активаторы или репрессоры транскрипции на промоторы генов интереса. Другими словами, появилась возможность простой направленной регуляции транскрипции клеток сразу по множеству мишеней, что выводит исследования возможностей регуляции радиоустойчивости клеток человека на новый уровень.

В результате проведённых оптимизационных экспериментов разработаны рекомендации для эффективной мультиплексной сверхактивации генов интереса в человеческих клетках линий HEK293 и HeLa с помощью активаторов dCas9-VPR и dCas9-VP64, а также ацетилтрансферазы dCas9-p300core. Выполнены сравнительные исследования эффективности различных методов сборки и экспрессии гРНК в клетках. Оценены возможности управления степенью сверхэкспрессии генов комбинируя различные активаторы, позиции и количества гРНК. Определены ограничения, зависящие от базового уровня экспрессии.

Помимо оптимизационных экспериментов, выполнен обширный поиск и анализ существующих на данный момент исследований по регуляции стрессоустойчивости клеток и организмов с помощью сверхактивации генов стресс-ответа. Найдено более 300 исследований, выполненных с 1986 г. по настоящий момент, использовавших преимущественно введение в клетки векторов, несущих кДНК генов интереса. Анализ результатов данных экспериментов свидетельствует о низкой эффективности с точки зрения стрессоустойчивости сверхактивации отдельных генов, что чаще всего приводит к разбалансировке систем защиты клетки и снижению резистентности. Перспективной кажется одновременная сверхактивация нескольких генов, связанных между собой функционально (субъединицы одного комплекса или цепи одного сигнального

каскада). Кроме того, на основании анализа литературы сделаны предположения о возможностях повышения стрессоустойчивости клеток человека без повышения частоты малигнизации.

Выполнены предварительные исследования эффекта сверхактивации распознающего комплекса эксцизионной репарации ДНК (RPA1-HR23B-XPC-XPA) на радиационную устойчивость клеток НЕК293.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук (МК-2929.2017.4)

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИСПУСКАНИЕ ЖЕЛЕЗА.

Владиминова - Михалева Л.С.

Софийский университет „Св. Климент Охридски”, Физический факультет, София, Болгария

e- mail: vladimirova@phys.uni-sofia.bg

Ферритин - это биомолекула, которая состоит из двадцати четырех субединиц и исполняет роль основного внутриклеточного депо железа. Эта биомолекула важна, потому что связана с нейродегенеративными болезнями – Алцхаймер и Паркинсон. Поэтому они называются нейроферритинопатиями.

В настоящем исследовании рассматривается влияние ультрафиолетового (УФ), инфракрасного и гама излучения на выделение железа из ферритина. Ферритины представляют собой семейство железосодержащих белков в живых системах, от бактерий до людей. Они играют ключевую роль в биохимических превращениях железа и кислорода, процессов, имеющих жизненно большое значение для самого существования организмов.

Железо в ферритиновой сердцевине накапливается в виде нерастворимого кристалла Fe (III). Поэтому, чтобы быть выпущенным, минеральная сетка должна быть каким-то образом разложена. Обычно это достигается путем восстановления Fe (III) до Fe (II). В исследовании рассматривалось разрушающее действие УФ, инфракрасного и влияние гама излучения на молекулу ферритина и последующее электрохимическое определение выделенного железа потенциометрическим титрованием.

Результаты показывают два разных механизма действия в областях УФ и близкой инфракрасной (БИК) части электромагнитного спектра.

Хотя УФ способен индуцировать прямое фотовосстановление ферритного комплекса внутри ферритина, БИК, похоже, оказывает прямое влияние.

В свете вышеприведенных данных разумно предположить роль промотора для этого типа излучения, который можно рассматривать как индуктор изменений в структуре третичного и четвертичного белка.

Из электрохимических экспериментов после облучения ферритина гамма излучением видно, что:

1. Прямые изменения в окислительно-восстановительном состоянии неорганического связующего железного сердечника из ферритина под действием гамма –излучения не происходят;

2. С увеличением дозы наблюдается более легкий доступ экзогенных восстановителей (аскорбиновая кислота, АА) к внутренней части молекулы, возможно это связано с тонкими изменениями в четвертичной структуре (особенно в геометрии входных каналов). Это приводит к повышению освобождения Fe²⁺ в растворе.

3. Свидетельством о повышенной диффузии через оболочки ферритина может служить величина производной кривой титрования;

4. В соответствии с предлагаемой рабочей гипотезой, наблюдаемые эффекты являются результатом косвенного воздействия излучения, генерируемого продуктами радиолиза воды.

Используемая методология представляется достаточно надежной для количественного определения осадков Fe²⁺.

РАДИАЦИОННАЯ МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ.

Газиев А.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино, РФ
gaziev.itcb@gmail.com

Воздействие космического излучения увеличивает риск развития рака, подвергают нарушению структуры и функции ЦНС, могут индуцировать дегенеративные эффекты тканей и вызвать лучевую болезнь космонавтов в период будущих многолетних миссий космических исследований за пределами околоземной орбиты. Актуальной задачей наземных радиобиологических исследований, использованием различных модельных систем, является получение необходимых знаний для поддержки здоровья и работоспособности космонавтов в этих миссиях.

Хотя наши знания достаточно ограничены, результаты ряда исследований показывают, что воздействие тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) вызывает длительные когнитивные дисфункции, нарушение сигнальных систем, изменения в экспрессии большого количества генов в нейронах, индукция кластерных двунитевых разрывов ДНК, приводящих к гибели клеток, или закреплению сложных хромосомных обменов и множества точечных мутаций. Характерным проявлением действия ТЗЧ и других ионизирующих излучений (ИИ) является индукция в клетках чрезмерно повышенного оксидантного стресса, сопряженного возникновением митохондриальных дисфункций. Мы вправе обоснованно связывать данные по индукции хронического повышенного оксидантного стресса в митохондриях клеток, индуцируемого ИИ, с развитием нейродегенеративных нарушений.

Анализ результатов многочисленных исследований, представленных в литературе, показывают, что повышенный оксидантный стресс тесно сопряжен с этиологией многих нейродегенеративных заболеваний. Так, повышенный оксидантный стресс является характерным для патологии нейродегенеративных расстройств, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона, хореи Хантингтона, атаксии Фридрейха, болезни Крейтцфельда-Якоба, для синдрома Герстманн-Штрауслера-Шейнкера и бокового амиотрофического склероза, эпилепсии, рассеянного склероза, а также при ишемическом и травматическом повреждении головного мозга, при фатальной семейной бессоннице. В литературе также представлены результаты исследований, которые позволяют принимать соответствующие интерпретаций по механизмам возникновения митохондриальной дисфункции и оксидантного стресса в клетках человека и животных в после воздействия ИИ.

Как известно, человеческий мозг составляет примерно 2% от веса тела, но потребляет 20-25% кислорода переходящего на все тело из-за его высокой потребности в энергии. Активность нейронов головного мозга зависит от высокой энергетической поддержки в виде АТФ, поставляемой митохондриями. Нейроны содержат самое большое количество митохондрий и копий митохондриальной ДНК (мтДНК) (также как кардиомиоциты), и создают большое количество АТФ посредством комплексов цепи переноса электронов (ЦПЭ) и АТФ-синтазы. Расчеты показывают, что активный мозг может генерировать около 30 мкМ/г/мин АТФ. Это примерно такое же количество АТФ, которое генерируется в мышцах ног человека, выполняющего норму марафонского бега. Одновременно с синтезом АТФ в митохондриях генерируются активные формы кислорода и азота (АФК), как побочные продукты, преимущественно за счет активности комплексов I и III ЦПЭ. Возникающие в начальной стадии воздействия ИИ, на живые организмы, возбужденные молекулы, свободные радикалы,

индуцирующие повреждения клеточных структур, крайне нестабильны и подвергаются быстрой реорганизации и рекомбинации. Вместе с тем в митохондриях облученных клеток происходит пролонгированная повышенная активация генерации АФК. основные «долгоживущие» АФК, генерируемые в пост радиационный период, имеют такую же химическую природу, как АФК, образующихся в митохондриях, не облученных клеток, в процессе синтеза АТФ. Увеличение концентрации АФК в клетках, генерируемых в пост радиационный период, приводит к дисбалансу между уровнем оксидантов и активностью антиоксидантных систем. Возникший повышенный оксидантный стресс, в результате этого дисбаланса, приводит к повреждению различных клеточных компонентов (прежде всего ядерного генома, мтДНК, белков, липидов), нарушению клеточной пролиферации и функций митохондрий. Повреждения митохондрий (включая мтДНК) могут вызвать дисфункцию этих органелл, мутагенез мтДНК, активацию экспрессии белков комплексов ЦПЭ и повышенную и долговременную генерацию АФК. Включение дефектных белков, кодируемых мутантными генами мтДНК, в процесс синтеза АТФ, в котором также участвуют продукты около 90 ядерных генов, вызывает пертурбацию этого процесса, опять же, с усилением генерации АФК. Повышенный уровень вновь генерируемых АФК снова вызывает повреждения митохондрий и мтДНК. Таким образом, нарушение функции митохондрий приводит к развитию контура «порочных кругов», длительно поддерживающего производство АФК, которые создают оксидантный стресс и вызывают хронические повреждения клеточных макромолекул. Эта критическая ситуация способствует инициации ретроградных сигналов из митохондрий в ядерный геном, с участием ядерного фактора Nrf2, для активации экспрессии защитных антиоксидантных генов, кодируемых яДНК. Увеличение отношения АМФ/АТФ, которое приводит к активации АМФ-активируемой протеин киназы и цепочки биогенеза митохондрий посредством вовлечения ко-активатора PGC-1 может способствовать развитию восстановительных процессов. С активацией биогенеза митохондрий, может активироваться также динамику этих органелл с селективным удалением дисфункциональных органелл посредством митофагии (аутофагии). Активация митофагии является важным процессом для снижения, индуцированного радиацией повышенного оксидантного стресса и восстановления энергетического гомеостаза в структурах мозга. Исходя из того, что отмечено в данном контексте, напрашивается поиски митохондриально-направленных эффективных средств для снижения дисфункции органелл и уровня АФК для предотвращения последствий воздействия ИИ. Наиболее приемлемыми подходами, для экспериментального исследования блокировки возникновения «порочных кругов» с повышением оксидантного стресса и снижения нейродегенеративных нарушений, индуцируемых ИИ, на наш взгляд, являются важными поиски активаторов митофагии и проведение водородной профилактической защиты нейронов от наиболее опасных компонентов АФК в структурах мозга.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОБЛУЧЕНИЯ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ДОЗ.

Дорожкина О.В.¹, Иванов А.А.^{1,2}, Гаевский В.Н.²

¹ГНЦ РФ-ИМБП РАН, Москва, Россия

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Нарушение хромосомного аппарата живых биосистем, начиная от вирусов и бактерий до человека, является наиболее достоверным свидетельством воздействия на них ионизирующего излучения (Б.С. Федоренко, 2006). Биомедицинские эффекты облучения в малых дозах и при малых мощностях дозы являются предметом многочисленных исследований на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях. Данные о биомедицинских эффектах малых доз облучения многочисленны и, в ряде случаев, противоречивы. Достаточно чувствительными и высокоспецифичными для радиационного воздействия являются патогенетически значимые традиционные радиобиологические показатели: число кариоцитов в костном мозге, уровень хромосомных аберраций и митотическая активность быстро пролиферирующих тканей (Г.П. Груздев, 1988). Целью нашей работы стало изучение цитогенетических и цитологических эффектов облучения в широком диапазоне доз.

Исследования осуществлялись на аутбредных мышах ICR (CD-1) – SPF категории, а также конвенциональных F1(CBA×C57Bl) самцах и самках в возрасте от 1,5 до 4 месяцев с массой тела от 20 до 35 грамм. Экспериментальные животные были подвергнуты тотальному одностороннему γ -облучению ⁶⁰Co на установке «Рокус-М» МТК ОИЯИ в дозах 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 200 мГр, с мощностью дозы 6,916 мГр/мин. Облучение в дозах 25, 50, 100, 200, 250 и 400 сГр также проводили на установке «Рокус-М» со средней мощностью дозы порядка 100 сГр/мин. Эвтаназию животных осуществляли путем цервикальной дислокации через 21-22 часа после облучения.

В диапазоне доз до 20 сГр имеет место достоверное дозозависимое снижение числа кариоцитов в костном мозге. В большинстве групп мышей, облученных в дозах от 20 сГр до 400 сГр, отмечено статистически достоверное дозозависимое снижение числа кариоцитов в костном мозге в сравнении с биоконтролем.

Митотическая активность клеток костного мозга либо не менялась, либо даже повышалась – наиболее отчетливо при дозах 7,5 и 20 сГр. При дальнейшем увеличении дозы облучения имеет место дозозависимое снижение митотического индекса.

В диапазоне доз от 1 сГр до 7,5 сГр отмечается дозозависимое повышение выхода aberrантных митозов, однако при дальнейшем увеличении дозы до 20-25 сГр выход aberrантных митозов несколько снижается. В последующем, начиная с дозы 50 сГр и до 400 сГр, зарегистрировано дозозависимое увеличение выхода aberrантных клеток.

Таким образом установлено, что при облучении экспериментальных животных в области малых и очень малых доз отмечено дозозависимое снижение числа кариоцитов в костном мозге, увеличение митотического индекса и aberrантных митозов клеток костного мозга. У экспериментальных животных, подвергнутых воздействию γ -излучения в средних и больших дозах, отмечено дозозависимое снижение числа кариоцитов в костном мозге, снижение митотического индекса и увеличение числа aberrантных митозов. Полученные нами данные могут быть использованы для расширения представлений о радиационном гормезисе, ускоренном старении, онкотрансформации, регламентировании допустимых доз облучения и др.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПАРАМЕТРОВ ТРЕКОВ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ
С РАЗНЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ НА
ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕПАРАЦИИ И СЛОЖНОСТЬ ФОРМИРУЕМЫХ ДР ДНК.**

Заднепрянец М.Г.^{1,2,}, Борейко А.В.^{1,2}, Буланова Т.С.^{1,2}, Йежкова Л.^{1,3}, Красавин Е.А.^{1,2},
Куликова Е.А.^{1,2}, Смирнова Е.В.¹*

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

²Государственный университет «Дубна», Дубна

³University of chemistry and technology Prague, Prague, Czech Republic

*e-mail: marysaveleva@mail.ru

Исследовано влияние физических характеристик треков ускоренных ионов ¹¹B (ЛПЭ = 44 кэВ/мкм, E = 32,3 МэВ/нуклон), ¹¹B (ЛПЭ = 91 кэВ/мкм, E = 13 МэВ/нуклон), ¹¹B (ЛПЭ = 138 кэВ/мкм, E = 8 МэВ/нуклон) ¹⁵N (ЛПЭ = 183 кэВ/мкм, E = 13 МэВ/нуклон), ²⁰Ne (ЛПЭ = 132 кэВ/мкм, E = 47 МэВ/нуклон) на эффективность репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в фибробластах человека. В качестве маркеров ДР ДНК использовали гистон γ H2AX и репарационный белок 53BP1. Показано, что в клетках, подвергшихся воздействию низкоэнергетичных ионов с высоким значением ЛПЭ кинетика элиминации γ H2AX/53BP1 фокусов замедлена по сравнению с действием ионов средних энергий с более низким значением ЛПЭ. С целью определения влияния структуры треков заряженных частиц на сложность формируемых повреждений ДНК, фибробласты человека облучали под малым углом к плоскости распространения пучка ускоренными ионами ²⁰Ne (ЛПЭ = 171 кэВ/мкм, E = 34 МэВ/нуклон) и ¹¹B (ЛПЭ = 55 кэВ/мкм, E = 25 МэВ/нуклон). Выявлено, что ионы ²⁰Ne с высокой плотностью δ -электронов индуцируют более крупные и сложноорганизованные кластерные γ H2AX/53BP1 фокусы, что свидетельствует о формировании более комплексных ДР ДНК по сравнению с действием ионов ¹¹B с меньшей плотностью δ -электронов в треке.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДА «СЕМАКС» НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ПРОТОНАМИ.

Колесникова И.Н.^{1,4}, Буденная Н.Н.^{1,4}, Северюхин Ю.С.^{1,3,4}, Молоканов А.Г.¹, Иванов А.А.^{1,2,3}

¹ Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва

⁴ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Университет «Дубна», Дубна, Россия
innakolesnikova0793@gmail.com

Одним из факторов, представляющих высокую опасность при осуществлении пилотируемых полётов в дальний космос, является космическая радиация. При анализе радиобиологических эффектов космической радиации следует иметь в виду наличие в составе галактических космических лучей заряженных частиц, и, прежде всего, протонов, обладающих высокой биологической эффективностью. Радиобиологические проблемы освоения космоса неоднократно рассматривались в работах Федоренко Б.С., Григорьева А.И., Красавина Е.А., Островского М.А.

Действие ионизирующего излучения на ЦНС вызывает комплекс сложных биохимических и морфофизиологических реакций, развитие которых может быть в известной степени модифицировано применением фармакохимических средств. К ним, в частности, относится медицинский препарат «Семакс» - метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин. Семакс относится к фармацевтической группе ноотропных средств и выпускается в лекарственной форме: капли назальные 0,1 %. Препарат влияет на процессы, связанные с формированием памяти и обучением, усиливает внимание при обучении и анализе информации, улучшает консолидацию памятного следа у пациентов после нейрохирургических вмешательств, черепно-мозговой травмы, у лиц, страдающих цереброваскулярными заболеваниями, в том числе дисциркуляторной энцефалопатией, улучшает адаптацию организма к гипоксии, церебральной ишемии, наркозу и другим повреждающим воздействиям. В связи с вышеперечисленными свойствами препарата вполне вероятно способность Семакса специфически влиять на радиационные нарушения в ЦНС.

Целью исследования является оценка противолучевого влияния официального препарата Семакс (капли назальные 0,1 %) на морфологические изменения нейронов сенсомоторной коры и клеток Пуркинье коры мозжечка мышей, облученных протонами с энергией 70 МэВ.

Исследования цитоморфологических изменений в нейронах головного мозга осуществлялись на аутбредных половозрелых самках мышей ICR (CD-1), SPF категории, массой тела 21 – 29 грамм, в возрасте 7-8 недель. В ходе всего эксперимента животные содержались в стандартных лабораторных условиях и имели свободный доступ к воде и корму.

Животные были подвергнуты облучению ускоренными протонами на медицинском пучке фазотрона ОИЯИ дозой 2,3 Гр. Мышей фиксировали и облучали в специальных контейнерах в краниокаудальном положении по 4 животных одновременно. Средняя энергия протонного пучка на входе в кабину перед

замедлителем составляет 171 МэВ. Энергия пучка в кабине была определена по пробегу пучка в воде ($R = 200$ мм воды). Измерения проводили полупроводниковым кремниевым детектором. Среднее значение линейной передачи энергии (ЛПЭ) пучка на входе в объект составляло 0,49 кэВ/мкм.

Дозиметрическая калибровка пучка в каждой точке глубинного дозового распределения проводится ионизационной камерой ТМ30013 клинического дозиметра РТW UNIDOS-E.

Облучение проводили в пике Брэгга при толщине дополнительного замедлителя 190 мм. Мощность дозы на входе пучка (с убраным дополнительным замедлителем) составляла 0,62 Гр/мин. Мощность дозы в точке облучения (90% от уровня дозы в пике Брэгга) составляла 1,42 Гр/мин. Отношение дозы в точке облучения (тканя биообъекта) к дозе на входе составляло 2,3. То есть, при дозе, равной 1 Гр на входе в биообъект, доза в точке облучения, т.е. в теле мышцы, составляет 2,3 Гр. Для контроля облучения за контейнерами с мышами экспонировалась радиохромная пленка.

Контрольные животные также были помещены в специализированные контейнеры и подвергались имитации процедуры облучения.

После облучения животных делили на три группы: группа 1 - облученные животные, которым интраназально вводили кипяченую воду комнатной температуры; группа 2 получала препарат Семакс 0,1% по 1 капле в каждую ноздрю, начиная со второго часа после облучения, трижды в сутки (утром, днем и вечером в течение 7 суток); группа 3 – необлученный контроль.

Животные были умерщвлены методом декапитации на 8 сутки после облучения. После декапитации биологический материал для гистологического исследования фиксировали в растворе Карнуа. Обработка головного мозга мышей и приготовление препаратов проходила в соответствии со стандартной гистологической техникой. Препараты окрашивали крезил-виолетом по методу Нисселя.

Для количественной оценки данных определяли процентное соотношение нейронов без видимых изменений, нейронов с обратимыми морфофункциональными и компенсаторно-приспособительными признаками и нейронов с дистрофическими изменениями. Статистическую значимость рассчитывали с помощью критерия Манна-Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

На 8 сутки после облучения в ткани сенсомоторной коры мышей обеих экспериментальных групп наблюдались следующие виды изменений нейронов: гипохромные нейроны, нейроны с различными видами хроматолиза: сегментарного, апикального и центрального. В 3-5 слоях коры встречались гиперхромные нейроны, с выраженной складчатостью ядерной мембраны. Кроме того, имело место увеличение количества сближенных нейронов в сенсомоторной коре, нейронов с двумя и тремя ядрышками - главным образом вблизи гиппокампа.

По результатам визуально-оптического анализа препаратов, полученных от животных экспериментальной группы 2, можно сделать вывод о том, что кровеносные сосуды сенсомоторной коры головного мозга имеют меньше признаков нарушений целостности структуры (не обладали признаками гомогенизации или разрыхления стенок), в отличие от группы 1. При этом и количество измененных нейронов у животных группы 2 было меньшим, по сравнению с животными группы 1. Очевидно, что существует прямая зависимость степени тяжести изменений нейронов от состояния капилляров и микрососудов.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что относительное число измененных нейронов у облученных животных (группа 1) в коре головного мозга достоверно является большим, по сравнению с необлученным контролем. У животных группы 2 при введении препарата Семакс количество измененных нейронов в

сенсомоторной коре существенно меньше, чем у облученных животных без введения препарата. Количество дистрофически-измененных нейронов в группе 2 приближается к уровню необлученного контроля.

Следует заметить, что количество нейронов без видимых нарушений в коре головного мозга животных в группах 3 и 2 больше, чем в группе 1. У животных группы 1 число нейронов с морфофункциональными и компенсаторно-приспособительными изменениями статистически значимо больше по сравнению с группой 3. При оценке количества дистрофических нейронов в коре было обнаружено статистически значимое отличие у облученных животных с введением кипяченой воды. В этой группе значительно выше показатель среднего числа нейронов с данным видом нарушений, чем в двух других группах. Необходимо отметить наблюдаемые изменения капиллярной сети коры головного мозга. Как правило, измененные нервные клетки располагались вблизи капилляров с периваскулярным отеком. Были обнаружены капилляры и мелкие сосуды с признаками гомогенизации или разрыхления их стенок, с набуханием ядер эндотелия. Иногда наблюдалось резкое расширение мелких сосудов, стаз эритроцитов в них. В некоторых случаях просвет микрососудов был неравномерно расширен и переполнен форменными элементами крови, но выхода их за пределы сосудистой стенки выявлено не было. Такого рода патологические изменения капилляров и мелких сосудов отмечались лишь в первой группе животных – облученных протонами.

Наблюдавшиеся изменения в клетках Пуркиньи мозжечка носили более выраженный характер: встречались гиперхромные нейроны с пикнотичным ядром, вокруг тел отдельных гиперхромных клеток имелся перичеселлюлярный отек. Облучение протонами статистически значимо снизило количество неизмененных нейронов и увеличило число клеток с морфофункциональными и компенсаторно-приспособительными признаками. Количественный анализ не выявил статистически значимых эффектов препарата Семакс в коре мозжечка. В группе 3 количество нормальных нейронов Пуркиньи статистически значимо больше по сравнению с группой 1.

Установлено, что в патогенезе лучевых поражений ЦНС значительное место занимает состояние стенок микрососудов, их повреждение является причиной нарушения барьерной функции эндотелия, что приводит к последовательному развитию периваскулярного отека, формированию локальной гипоксии, что в значительной мере ухудшает трофику ткани, способствует развитию вторичных дефектов в стенке сосудов, формирует дистрофические изменения нейронов. Гипоксия и нарушения углеводного обмена быстро сказывается на функциях нейронов, энергетические процессы в которых зависят от этих веществ, при ограничении кровоснабжения более глубокие повреждения развиваются, прежде всего, в нейронах с высоким уровнем метаболизма. Наиболее чувствительна к таким нарушениям кора больших полушарий, а также мозжечок, что и подтверждается в полученном материале большим количеством измененных нейронов у животных, подвергавшихся облучению протонами. В этой связи, отсутствие нарушений микроциркуляторного русла в коре большого головного мозга облученных животных, получавших Семакс, а также меньшее количество измененных нейронов указывает на эффективное положительное действие Семакса на гемодинамику головного мозга, на его противолучевой эффект. С учетом полученных результатов можно прийти к заключению о том, что действие препарата Семакс менее выражено в мозжечке, чем в коре головного мозга и наблюдаемое снижение повреждающего действия радиации связано с положительным действием Семакса на стенки капилляров сосудов мозга, что отражается в наблюдаемых компенсаторно-приспособительных реакциях нервных клеток.

СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА И ТЯЖЕЛЫХ ЯДЕР ОТДАЧИ.

*Корякина Е. В., Потетня В. И., Трошина М. В., Ефимова М. Н.,
Байкузина Р. М., Лычагин А. А., Ульяненко С. Е.*

Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия
ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Одной из главных задач радиобиологии частиц высоких энергий является определение точных значений относительной биологической эффективности (ОБЭ) тяжелых заряженных частиц для оценки как рисков возникновения рака вследствие продолжительных космических полетов, так и биологической дозы при ионной терапии. В последнем случае необходимо исследовать закономерности изменения ОБЭ ионов по объему распределенного пика Брэгга, и, в частности, в дистальной его области, где наблюдаются максимальные значения ОБЭ, обусловленные действием частиц с максимальными значениями ЛПЭ, но крайне малой величиной пробега, от 2 до 5 мкм.

В работе исследовали ОБЭ как ускоренных ионов ^{12}C , так и короткопробежных ядер отдачи С, N, O по тесту выживаемости клеток китайского хомячка двух линий (СНО-К1, V-79).

Облучение клеток ускоренными ионами углерода (энергия ионов на входе в фантом ~ 425 МэВ/нуклон, ускоритель У-70, ГНЦ РФ ИФВЭ – НИЦ «Курчатовский институт», г. Протвино) проводили в монослое (СНО-К1) или в суспензии (V-79) в двух положениях по ходу углеродного пучка: на начальном участке (плато) кривой Брэгга при ЛПЭ ~ 11 кэВ/мкм и в немодифицированном пике Брэгга при ЛПЭ ~ 120 – 140 кэВ/мкм. Для торможения процессов восстановления клеток суспензию готовили в обедненной среде (содержание сыворотки менее 2 %) и после облучения до посева выдерживали при температуре тающего льда. Диапазон доз составил на плато 1,0–8,5 Гр, в пике Брэгга – 0,5–4,5 Гр. Воздействие тяжелых ядер отдачи исследовали, используя метод облучения монослоя клеток нейтронами с энергией 14,5 МэВ (нейтронный генератор НГ-14, МРНЦ им. А. Ф. Цыба, г. Обнинск) в условиях отсутствия протонного равновесия. Клетки облучали через стеклянную подложку флакона Карреля (толщина 1 мм) на расстоянии 3 см от мишени генератора. Дозы изменялись в диапазоне 0–5 Гр. Среднедозовая ЛПЭ излучения в этих условиях ~ 290 кэВ/мкм, ЛПЭ тяжелых ядер отдачи, вклад которых в дозу составлял около 55 %, ~ 460 кэВ/мкм (кроме них ~ 15 % дозы обусловлено протонами отдачи и ~ 30 % – α -частицами).

Дозиметрию на углеродном ускорителе и нейтронном генераторе осуществляли экспериментально-расчетными методами с применением ионизационных камер, трековых детекторов деления, радиохромных пленок ЕВТЗ и расчетного комплекса Geant4.

При действии пучка ионов ^{12}C кривые выживаемости клеток обеих линий описывались линейно-квадратичными зависимостями в случае облучения на плато кривой Брэгга и линейными – в пике Брэгга. Различий в выживаемости клеток, облученных в монослое или в суспензии при одинаковых средних ЛПЭ, не обнаружено. Воздействие короткопробежных ядер отдачи С, N, O (совместно с протонами отдачи и α -частицами) при нейтронном облучении также характеризовалось линейными дозовыми кривыми для обеих клеточных культур. Величины ОБЭ_{10%} (при уровне выживаемости клеток 10 %) исследованных видов излучения для СНО-К1 и V-79

составили соответственно на плато 1,37 и 1,30, в пике Брэгга – 4,17 и 4,16, для тяжелых ядер отдачи – 2,76 и 2,80.

При интерпретации полученных результатов следует учитывать сложный состав излучения в обоих случаях. В пике Брэгга пучка ионов углерода 80 % суммарной дозы обусловлено ионами ^{12}C (остальные 20 % – высокоэнергетическими вторичными частицами H, He, Li, Be, B с энергиями до 2–4 ГэВ и низкими значениями ЛПЭ), из них 60–70 % – ионами ^{12}C с ЛПЭ в диапазоне 60–200 кэВ/мкм. Таким образом, почти половина дозы в пике Брэгга выделена частицами с ЛПЭ, соответствующими максимуму на зависимости ОБЭ–ЛПЭ.

В экспериментах с короткопробежными частицами примерно половина дозы также формируется за счет ядер отдачи (C, N, O), средняя ЛПЭ которых составляет ~ 460 кэВ/мкм. Исходя из дозового состава излучения, в предположении независимого действия частиц в условиях отсутствия протонного равновесия была оценена величина ОБЭ ядер отдачи, которая оказалась равной 3,0–3,1. Более низкие значения ОБЭ тяжелых ядер отдачи C, N, O по сравнению с ОБЭ ионов ^{12}C в одинаковом диапазоне ЛПЭ (50–1000 кэВ/мкм), возможно, объясняется разными средними значениями ЛПЭ – 460 и 120–140 кэВ/мкм соответственно. Как известно из зависимости ОБЭ–ЛПЭ, максимальные величины ОБЭ для заряженных частиц наблюдаются при ЛПЭ 100–200 кэВ/мкм, при дальнейшем увеличении ЛПЭ биологическая эффективность снижается. Следует отметить, что остается неизученным вопрос о возможном синергическом действии компонентов излучения на углеродном пучке в пике Брэгга, что также могло привести к различиям в значениях ОБЭ.

Таким образом, полученные оценки ОБЭ ускоренных ионов углерода и тяжелых ядер отдачи в целом согласуются с зависимостью ОБЭ–ЛПЭ с учетом их физических характеристик и сложного дозового состава излучения в обоих исследованных случаях.

ИНДУКЦИЯ HPRT-МУТАЦИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВРЕМЕНИ ЭКСПРЕССИИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ КЛЕТОК КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ТЯЖЕЛЫМИ ЗАРЯЖЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ

Кошлянь Н.А.¹, Блага П.^{1,2}, Богданова Ю.В.¹, Говорун Р.Д., ¹Петрова Д.В.,
Кошлянь И.В.^{1,3}

¹Лаборатория радиационной биологии, Объединенный институт ядерных исследований

²Факультет ядерный и физико-инженерный, Чешский технологический университет,
Прага, Чехия

³Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

Фундаментальные исследования воздействия ионизирующих излучений на клетки млекопитающих и человека по-прежнему представляют большой интерес. В связи с подготовкой к пилотируемым космическим полетам за пределы магнитосферы Земли особое внимание уделяется изучению влияния на живые организмы тяжелых заряженных частиц, которые представляют жесткую компоненту Галактических космических излучений. Кроме того, в связи с использованием ионной терапии все более важным становится оценка воздействия частиц с высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ) на проявление задержанных генетических эффектов.

В работе исследована индукция HPRT-мутаций в зависимости от времени экспрессии после облучения клеток китайского хомячка (линия V79) тяжелыми заряженными частицами. Выявлены и выделены мутантные субклоны, индуцированные ускоренными ионами ¹⁸O (E = 35,2 МэВ/нуклон), ²⁰Ne (E = 47,7 и 51,8 МэВ/нуклон) и ¹¹B (E = 32,4 МэВ/нуклон) с ЛПЭ в диапазоне от 49 до 149 кэВ/мкм. Выход фракции HPRT-мутантов у облученных клеток оценивался во время рекультивации культуры через каждые 3 дня до примерно 40 дней (70-80 поколений клеточных генераций) после облучения. Максимальный выход мутантов зависел как от характеристик ионизирующего излучения, так и от времени экспрессии. Положение максимума смещается в более отдаленные времена экспрессии при увеличении ЛПЭ тяжелых заряженных частиц. Мы предполагаем, что мутации, возникающие в столь отдаленные сроки после облучения, образуются *de novo* и являются проявлением геномной нестабильности.

Кроме оценки частоты мутагенеза был проведен анализ по другим цитогенетическим показателям. Выращенные субклоны использовали для выделения ДНК и приготовления метафазных пластинок для последующего анализа. Структурные изменения гена HPRT исследовали с использованием метода ПЦР. Выявлено, что в зависимости от типа излучения у примерно 30% образцов отсутствует, по крайней мере, один из девяти экзонов. Частота мутагенеза сравнивались с выходом хромосомных aberrаций в одни и те же сроки наблюдений. В некоторых случаях обнаружена корреляция между выходом хромосомных aberrаций и частотой радиационно-индуцированного мутагенеза.

ВОЗМОЖНОСТИ СНИЖЕНИЯ ДОЗЫ ПРИ РАДИАЦИОННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ.

*Розанов В.В.^{1,2}, Матвейчук И.В.², Черняев А.П.¹, Никитина З.К.²,
Гордонова И.К.², Литвинов Ю.Ю.², Лыкова Е.Н.³*

¹Физический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, ²Научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия, ³Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

iv-kate@yandex.ru

Эффективная стерилизация костных имплантатов является необходимым условием их безопасного применения при проведении реконструктивно-восстановительных оперативных вмешательств. В условиях все возрастающей потребности в костном пластическом материале применяемые методики стерилизации должны обеспечить не только надежную защиту пациента от возможного инфицирования, но максимально возможную сохранность остеоиндуктивных свойств и пластических характеристик имплантата [1].

Одной из наиболее эффективных технологий стерилизации биоматериалов сегодня является облучение потоком гамма-квантов или пучком быстрых электронов. При этом в большинстве тканевых банках в качестве практической нормы принимается величина дозы поглощения 25 – 30 кГр. Считается, что такая доза обеспечивает достаточную стерильность биоматериалов [2,3]. Однако, во-первых, не все патогены гарантированно уничтожаются при таких дозах, во-вторых, есть достаточно много исследований, свидетельствующих о негативном воздействии такого излучения на свойства биотканей. В частности показано, что уже при величине дозы поглощения в 15 кГр могут происходить существенные изменения их морфологических характеристик [4]. Кроме того при большой дозовой нагрузке имеет место разрушение морфогенетических белков, что приводит к ослаблению или даже полной утрате остеоиндуктивного потенциала пересаженного материала. Один из реальных путей снижения дозы радиационного облучения при сохранении высокого уровня стерильности биоимплантатов – использование комбинированных технологий

При таком подходе предлагается отказаться от одноэтапной обработки биоматериала, а использовать сочетанное воздействие различных физических и химических факторов. Суть такой технологии не только во взаимном дополнении, но и во взаимном усилении стерилизующего воздействия каждого из факторов, что позволяет получить выраженный синергетический эффект. В результате можно снизить интенсивность каждого воздействия в отдельности, и таким образом понизить и возможное побочное действие при усилении суммарного положительного эффекта.

Последние исследования, проведенные в совместной (МГУ-ВИЛАР) лаборатории биомедицинских технологий, продемонстрировали практическую работоспособность предложенного научно-технологического решения.

В качестве экспериментального пластического материала были использованы образцы нативной компактной костной ткани быка, вырезанные из бедренной кости. Образцы имели прямоугольную форму с размерами 18x8x6 мм. Образцы были контаминированы смешанной микрофлорой. В разных сериях экспериментов группы образцов подвергались различным воздействиям.

Исследовалась эффективность технологии двухэтапной стерилизации, при которой на первом этапе производится обработка костных образцов озono-кислородной

газовой смесью при комнатной температуре в ограниченном объеме, затем производится герметичная упаковка образцов в специальную стерилизованную пленку и последующая радиационная обработка. Эффективность стерилизации каждого отдельного этапа и суммарного воздействия определяется микробиологическими исследованиями.

Озоновая обработка костных фрагментов производилась НИЦ БМТ ВИЛАР. Радиационное облучение осуществлялось на линейном ускорителе электронов Института ядерной физики МГУ имени М.В.Ломоносова (энергия 1 МэВ, мощность пучка – до 25 кВт, дозы поглощения – 11, 15, 23, 27 кГр). Микробиологические исследования были проведены в НИЦ БМТ ВИЛАР с использованием двух культуральных сред – тиогликолевой среды (на наличие аэробных и анаэробных бактерий) и среды Сабуро (на наличие микроскопических грибов).

В результате микробиологических исследований было установлено, что образцы костной ткани, прошедшие только озоновую обработку, и образцы контрольные показали наличие обсемененности на 3-и сутки культивирования на обеих средах. Образцы, подвергавшиеся только радиационной обработке в указанных режимах, показали наличие обсемененности на 6-14 сутки эксперимента, по крайней мере, по одной из используемых культуральных сред. Только образцы костной ткани, прошедшие полную двухступенчатую обработку продемонстрировали полную стерильность по обеим культуральным средам.

Таким образом, удалось достичь необходимой стерильности нативных костных образцов при облучении потоком электронов с дозой поглощения 11 кГр. Такой результат является новым и открывает широкие перспективы применения радиационной стерилизации костных имплантатов с сохранением их остеиндуктивных свойств.

Литература

1. Лекишвили, М.В. Технологии изготовления костного пластического материала для применения в восстановительной хирургии (экспериментальное исследование) / Лекишвили М.В. // дисс... докт. мед. наук. – Москва. – 2005. – 236 С.
2. Перова, Н.В. Роль ионизирующего излучения в изготовлении медицинских изделий / Перова Н.В., Довжик И.А., Севастьянов В.И. // V Всероссийский симпозиум с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». – Уфа. – 2012. – Сборник тезисов. – С. 99-100.
3. Singh, R. Radiation sterilization of tissue allografts / Singh R., Singh D., Singh A. // A review. – World Journal of Radiology. – 2016, v.8. – issue 4. – P. 355.
4. Шангина, О.Р. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов / Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т. // Морфология. Научно-теоретический медицинский журнал. Санкт- Петербург. – 2006. – № 3. – Т. 129. – С.44-48.

К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ ДОЛГОСРОЧНЫХ ПРОБЛЕМ КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ.

Любашевский Н.М.¹, Стариченко В.И.²

¹Israeli Independent Academy for Development of Sciences, Israel

²Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия
nahum.nema@mail.ru

Очевидно, что космические полёты, материалы которых являются основным содержанием космической медицины и биологии, не являются самоцелью. Приобретенный опыт, несомненно, способен обеспечить успешный полёт на «Марс» (ориентировочно, согласно программе SpaceX). Патогенные факторы космоса на планетарной поверхности будут благоприятно модифицированы, исчезнет главный из них – невесомость. Но ни один, в том числе радиационный, не вернётся к земной норме. Общепринято, что базовые проблемы воздушной среды, водного и пищевого режима, бытового и психологического комфорта уже в основном решены и не станут непреодолимым препятствием.

Колонизация, однако, подразумевает освоение новой среды в ряду поколений. При этом экологическая среда Марса, даже в условиях предельно совершенной технологической поддержки, предъявит организму землянина беспрецедентный, никогда в истории эволюции приматов не встречавшийся комплекс требований. Правда, куда более древний пример выхода позвоночных из водной среды на сушу – даже более масштабное событие, указывающее на возможность естественной адаптации к чуждой среде. Ключевое понятие здесь – адаптация. Медицинские проблемы начальных этапов освоения прибывших на планету пионеров-колонизаторов ориентировочно известны. Это эффекты воздействия главным образом невесомости и космической радиации, приведшие в полугодичным космическом перелёте к системным изменениям костной ткани с сопутствующими нарушениями минерального обмена (в частности, учащениям почечнокаменной болезни), нейроэндокринным сдвигам, сердечнососудистым, иммунным нарушениям, изменениям мышц, слуха, зрения и пр. При этом все эти поражения являются результатом индивидуальной реактивности, этиология, патогенез и клиника которых в общем известны.

Но уже с первых шагов колонизации тесная группа людей в полной мере приобретёт давно утраченные или сильно ограниченные в процессе цивилизации свойства популяции. Действительно, **популяция – совокупность особей одного вида, занимающих определённую территорию и свободно скрещивающихся между собой, но в то же время частично или полностью изолированных от других популяций.** Соответственно, **популяционная** реактивность, принципиально отличается от **индивидуальной**, и в медицине почти не представлена. Проиллюстрируем это положение, которое может стать ключевым, на 2-х примерах.

1. Сравнение индивидуальных и популяционных **патологических** эффектов накопления остеотропных радионуклидов и фторидов. Различны их первичные механизмы действия: ионизирующая радиация воздействует на ДНК; фториды блокируют ряд ферментативных реакций. Критические органы: при радиационном воздействии – костный мозг; при воздействии фтора и фторидов – костная и зубная ткани. Клиника поражения существенно отличается: лучевая болезнь легко дифференцируется от флюороза. В то же время популяционные реакции грызунов при загрязнении остеотропными радионуклидами (Дубинин, 1972; Ильенко, Крапивко, 1989; Любашевский и др., 2000) и фторидами (Любашевский и др., 1996, 1997, 2002) однотипны. Близки демографические сдвиги, цитогенетические и характерные морфофизиологические нарушения. Тем не менее обнаружены и некоторые

специфические гематологические особенности, например, в работе (Чибирик, 1996) найдены диаметральные различия в тестах на поглощение кислорода.

2. «...**адаптация к окружающей среде происходит в экстремальных условиях исключительно на популяционном уровне, никакие другие механизмы приспособления просто-напросто невозможны**» (Большаков, 1972). В частности, для воздействия остеотропных радионуклидов и фторидов характерно развитие в ряду поколений **наследуемой популяционной адаптации** (Любашевский и др., 1996, 2002; Любашевский, Стариченко, 2010) с весьма близкой демографической и индивидуальной симптоматикой. Такая популяционная стратегия выживания животных объясняется тем, что при новом воздействии используются механизмы, отработанные при эволюции в нестабильной, богатой природными катастрофами (пожары, наводнения, засухи и пр.) и сезонными сдвигами среды обитания.

Таким образом, **колонизация Марса зависит от способности человека к популяционной адаптации**, к его экологическим условиям, в комплексе которых космическая радиация, а также от возможности **противостоять «популяционной» заболеваемости**. Очевидно, что огромный опыт внеземных полётов даёт достоверную картину индивидуальной реактивности на космические воздействия, но не приложим к популяционным проблемам. То же – о большей части данных по человеку при хроническом облучении в случае радиационных инцидентов. В лаборатории популяционные процессы, в том числе популяционная радиоадаптация, не воспроизводимы. Например, в эксперименте, описанном в работе (Шведов, Аклеев, 2001), у более десяти поколений крыс, пожизненно получавших ^{90}Sr в дозах от надфоновых до сублетальных, признаков радиоадаптации не найдено.

Фактически только радиоэкология и экотоксикология являются источником достоверных сведений о популяционной реактивности в экотоксичной среде. Популяция с присущей ей реактивностью реализуется в природной среде с участием факторов эволюции. Анализ микроэволюционных процессов в импактных популяциях грызунов позволил понять, что развитие наследуемой адаптации возможно только при прямом воздействии вредоносных факторов на популяцию. Одним из важнейших адаптивных механизмов является снижение миграционной способности, ограничивающей обмен адаптированного наследственного материала с неадаптированными соседними популяциями. Минимально необходимое снижение – <10% мигрантов – обеспечивает успешное выживание популяции на загрязнённой территории (Любашевский, Стариченко, 2010; Стариченко и др., 2014). Оно, однако, сопровождается множественными совместимыми с жизнью морфофизиологическими сдвигами (изменениями формулы крови, иммунологическими нарушениями, возрастанием частоты хромосомных аберраций, микроядер, анеуплоидии и полиплоидии, мутациями карิโอטיפа, атипичными формами клеток белой крови, микронарушениями черепа вплоть до настоящих уродств, изменениями частоты встречаемости неметрических альтернативных признаков, флуктуирующей асимметрией, нарушениями перекисного окисления липидов, антиоксидантной активности и другими биохимическими сдвигами). Это – **несовершенная адаптация**. В то же время в колонии обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus* Pallas, 1770), чрезвычайно **миграционно активного в естественной среде** подземного грызуна (до 70-100% мигрантов в отдельных возрастных стратах (Евдокимов, 2013), на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС, плотность загрязнения ^{90}Sr – 37000 КБк/м² или 1000 Ки/км²) миграция снизилась до <1% (Любашевский и др., 2002а, б; Стариченко, 2002, 2004, 2011). У этих изолированных группировок животных **патологии не обнаружено**, несмотря на более высокую (на порядок величин)

поглощённую дозу за жизнь от инкорпорированного ^{90}Sr , чем у несовершенно адаптированных грызунов (5 Гр vs 0.5 Гр). Это – *совершенная адаптация*.

Таким образом, снижение миграции – важнейшее условие и механизм адаптации. Сообщества человека, обитающие в чреде поколений на естественно и антропогенно загрязнённых радиоактивных территориях, демонстрируют похожие особенности реактивности (аналогия не полная из-за различия в числе облучённых поколений и незавершённости анализа населения естественных радиоактивных провинций). На сравнительно недавно радиоактивно загрязнённых территориях (2-3 поколения людей) с мобильным населением – множественная патология. При сравнимых дозовых нагрузках у населения естественных зон повышенного радиационного фона в ряде работ отклонений показателей здоровья не обнаружено. Например, в провинции Рамзар (Иран), где поглощённые дозы – до 260 мЗв/год, при фоновом значении – 3.5 мЗв/год (Ghiassi-Nejad et al., 2002, 2012). К сожалению, ценность материалов по радиоадаптации человека, представленных в работе (Korogodina et al., 2016), заметно снижается сопутствующими экспериментальными данными по обыкновенной слепушонке. Её радиоадаптация маловероятна, поскольку грызуны из колонии на слабо загрязнённом берегу радиоактивной реки Теча, где 20 кБк/м^2 ($0,5 \text{ Ки/км}^2$) в почве (Трапезников и др., 2007), несколько Бк над фоном в кости (собственные данные). При **таком уровне радиации** нет ограничений проживания человека, т.к. среднегодовые дозы не превышают 1 мЗв (МР 2.6.1.0051-11). А радиоадаптация грызунов не описана. Феномен *совершенно радиоадаптированной слепушонки* индуцирован в зоне ВУРСа при 37000 кБк/м^2 (1000 Ки/км^2) и $765 \pm 54 \text{ Бк/г}$ кости (Стариченко, 2011). Наблюдения на ВУРСе и в Чернобыле свидетельствуют, что признаки радиоадаптации возрастают с увеличением хронической дозовой нагрузки (Ильенко, 1974, 1989; Стариченко, 2007; Glazko, Glazko 2013). Это же неоднократно было подтверждено сравнением радиорезистентности к внешнему облучению грызунов из эпицентра и периферии ВУРСа. Следуя таким указаниям, мы (Григоркина, Любашевский, 1996) получили положительный результат, используя высоко радиоактивных животных и расценивая адаптивное значение данных в совокупности с другими демографическими и морфофизиологическими показателями. В то же время адаптивный ответ, – это **индивидуальная реакция**, полезная в комплексе показателей. Однако нет оснований считать его априорно тестом на **популяционную радиоадаптацию**.

В работах на животных с территории ВУРСа оказалось, что с популяционной реактивностью тесно сопряжены эпигенетические процессы (Vasil'eva et al., 2003; Любашевский, Стариченко, 2010). Вероятно, и такой аспект проблемы следовало бы изучить экспериментально. По-видимому, радиоадаптированные грызуны из радиационных зон могут рассматриваться как модельные млекопитающие, сделавшие уже «первые шаги» по пути необходимой для колонизации Марса адаптации. Полагаем, что проблемы, связанные с экспериментальным обеспечением исследования проблем облучения космонавтов, осваивающих внеземные планеты, должны быть рассмотрены комплексно, с учётом:

- популяционного характера жизнедеятельности первопоселенцев Марса;
- особенностей заболеваний, связанных с популяционной реактивностью;
- популяционной радиоадаптацией;
- негативной роли патологических эффектов космического перелёта в адаптации к планетарной среде;
- экспериментального обеспечения на Земле подготовки к колонизации ближайших планет.

**ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДА «СЕМАКС» НА ПОКАЗАТЕЛИ
ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РЕАКЦИИ И СИЛУ
СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ МЫШЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ.**

Ляхова К.Н.^{1,3}, Иванов А.А.^{1,2,3}, Молоканов А.Г.², Северюхин Ю.С.^{1,3}, Булынина Т.М.^{2,3},
Дорожжина О.В.^{2,3}, Утина Д.М.^{1,3}

¹ Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва

Изучено влияние нейропептида «Семакс» на показатели поведенческой исследовательской реакции и силу скелетной мускулатуры у мышей при действии протонов высоких энергий. Эксперименты проведены на самках аутбредных мышей ICR (CD-1), SPF-категории. Животных облучали в пике Брэгга протонами с начальной энергией 170 МэВ при толщине дополнительного замедлителя 190 мм. Дозы облучения на входе составляли 1 и 1,3 Гр, что соответствует 2,28 и 2,85 Гр в тканях облучаемых животных.

Установлено, что препарат Семакс при многократном (в течение 7 суток) интраназальном введении статистически значимо влияет на сохранность показателя ориентировочно-исследовательской реакции, нарушенной у облученных животных при дозе, равной 2,85 Гр. Препарат нормализует показатель эмоционального статуса (ЭС) на седьмые сутки после воздействия использованных доз облучения. В пострadiационный период его влияние на соотношении величины ОИР/ЭС сохраняется. Показано, что облучение в использованных дозах снижает величину силы скелетной мускулатуры мышей до 81,3-84,6 % от уровня группы контрольных животных. Применение Семакса восстанавливает уровень данного показателя до 93,1-100 %, поднимая его до значений, присущих контрольной группе.

ОБНОВЛЕНИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ НЕЙРОНОВ В ГИППОКАМПЕ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ КОРОТКИМИ ЭКСПОЗИЦИЯМИ ВСЕГО ТЕЛА.

Минеева О.А., Безряднов Д.В., Ениколопов Г.Н.

Лаборатория стволовых клеток мозга, Московский физико-технический институт,
Долгопрудный, Россия
o.mineyeva@gmail.com

Процесс образования новых нейронов в гиппокампе зрелого мозга млекопитающих поддерживается постоянно в течение жизни, что возможно благодаря длительному сохранению и постепенному расходованию пула недифференцированных предшественников (Seri et al., 2004; Knoth et al., 2010; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011; Spalding et al., 2013). Нейрогенез у грызунов инициируется активацией и делением небольшого числа стволовых клеток, основная часть которых представляет резерв и находится в состоянии покоя. В результате этого в течение нескольких недель созревают новые нейроны, которые обладают повышенной пластичностью и по мере созревания и встраивания в существующие нейронные цепи изменяют связи между гиппокампом, корой, миндалиной и другими структурами мозга в ответ на опыт (Bergami et al., 2015; Vivar et al., 2016; Vivar et al., 2012). В то же время, экспериментальное подавление нейрогенеза у грызунов изменяет эмоциональный статус и нарушает обучение и память в задачах пространственного ориентирования, различения схожих стимулов и других формах сложного поведения (Aimone et al., 2014; Christian et al., 2014; Cameron and Glover, 2015). Ионизирующая радиация тоже влияет на поведение в подобных задачах и угнетает нейрогенез, вызывая гибель делящихся нейрональных предшественников или препятствуя их делению (Clelland et al., 2009; Acharya et al., 2015; Allen et al., 2014; Allen et al., 2013; Mizumatsu et al., 2003; Monje et al., 2002; Monje et al., 2003; Moravan et al., 2011; Rola et al., 2008; Rola et al., 2004a; Rola et al., 2004b; Rola et al., 2005; Sweet et al., 2014). Это может объяснить длительные когнитивные нарушения у людей после радиотерапии опухолей мозга как частично обусловленные повреждением гиппокампа и сниженным уровнем нейрогенеза (Ahles et al., 2012; DeSantis et al., 2014; Perry and Schmidt, 2006; Rapp et al., 2015; Smart, 2017). Эти же изменения могут быть важны для космических полётов и длительного проживания людей в зонах радиационных утечек. В связи с этим, определение прогнозов развития когнитивных ухудшений при радиационном воздействии, а также поиск стратегий восстановления пула новых нейронов после облучения, требуют характеристики чувствительности различных типов нейрональных предшественников к спектру доз радиации.

Большая часть опубликованных данных о влиянии радиации характеризует чувствительность всей совокупности делящихся клеток (Mizumatsu et al., 2003; Monje et al., 2002; Rola et al., 2008; Rola et al., 2004a; Rola et al., 2005); нас же интересовала радиационная устойчивость отдельных типов предшественников, обладающих разным потенциалом и разными параметрами обновления. Мы обратились к разработанным нами ранее инструментам генетического маркирования и дифференциации основных типов ранних предшественников (трансгенные животные с экспрессией флуоресцентного белка под промотором гена Nestin (Mignone et al., 2016; Mignone et al., 2004)) и слежения за делением клеток (комбинированные протоколы нуклеотидного мечения делящейся ДНК (Encinas et al., 2011)), и с их помощью исследовали воздействие кратковременного гамма-облучения всего организма на обновление нейронов у мышей. Наиболее важной задачей при этом являлось определение чувствительности стволовых клеток как первичных предшественников, запускающих

нейрогенез (Seri et al., 2001; Kronenberg et al., 2003; Mignone et al., 2004; Kempermann et al., 2004; Seri et al., 2004; Encinas et al., 2006; Bonaguidi et al., 2011; Encinas et al., 2011). Сохранение и расходование их ограниченного резерва, определяющее возможность их дальнейшего восстановления, может зависеть от возраста облучённых животных (Naylor et al., 2008; Hellström et al., 2009; Li et al., 2016), и от типа радиации (Encinas & Enikolopov, 2008; Rivera et al., 2013; DeCarolis et al., 2014; Li et al., 2016).

Для определения острой чувствительности ранних предшественников к радиации, немедленные эффекты гамма-облучения были первоначально изучены для нескольких доз меньше 1 Гр, которые были набраны в промежутке от 1,5 до 25 минут. Замедление клеточного цикла или гибель делящихся стволовых и их дочерних клеток не обнаруживались через 24 часа после такого облучения. Модификация этого протокола, позволяющая оценить прогрессию клеток по клеточному циклу с помощью распределённого во времени повторного мечения ДНК, была далее применён для исследования эффектов доз 1 и 5 Гр, мощностью 1 Гр/мин. Общий пул в основном покоящихся стволовых клеток не уменьшился после облучения обеими дозами, что говорит об относительной стабильности неделящегося резерва стволовых клеток даже при повышенных умеренных дозах. Вместе с тем, как и ожидалось, радиация затронула деление и выживание клеток. После облучения 1 Гр, стволовые клетки и их непосредственное потомство замедлили деление и переход в следующий клеточный цикл. С увеличением дозы до 5 Гр оба типа клеток также подверглись гибели, и приостановилось пополнение делящихся стволовых клеток из пула покоящихся. Тем не менее, по завершению периода острого апоптоза, в нейрогенной нише оставались небольшие популяции стволовых и дочерних клеток, которые продолжали деление и через 24 часа после радиационного облучения. Наши данные говорят о том, что восстановление нейрогенеза после умеренных доз потребует возобновления предшественников на разных этапах развития и поэтому может быть длительным, в то время как сравнительно сохранённый резерв стволовых клеток, генерирующий делящуюся популяцию, потенциально способен обеспечить процесс регенерации.

Для исследования возможности восстановления нейрогенеза, нарушенного в результате радиационного облучения, долговременные последствия облучения были исследованы через 2 месяца. Количество стволовых клеток у облучённых животных по-прежнему не отличался от контроля (с учетом процесса нормального истощения пула стволовых клеток с возрастом). Также, по результатам мечения делящейся ДНК в течение 3 дней, не отличалась и доля делящихся стволовых клеток среди их общего пула, что согласуется с параллельным отсутствием различий в пролиферации дочерних предшественников. Более того, сохранились пространственный паттерн активации деления стволовых клеток и преимущественно асимметричный тип их деления. В то же время, после облучения дозой 5 Гр, деление нейрональных предшественников и популяции созревающих новых нейронов были по-прежнему нарушены. Эти результаты говорят о возможности долговременного сохранения стволовых клеток и восстановления активации их деления через 2 месяца после облучения.

Тем не менее, не исключено, что наблюдаемое восстановление делений является неполным или временным. На более отставленных сроках могут проявиться последствия возможного повреждения генома покоящихся стволовых клеток, возобновляющих популяцию делящихся, а также последствия потенциальных системных факторов, часто наблюдаемых после облучения - острой или хронической формы воспаления и сосудистых нарушений. Так, наши предварительные данные говорят о недостаточности пролиферации предшественников и через 6 месяцев после облучения 5 Гр, несмотря на присутствие пула стволовых клеток. Также не исключено, что механизмы индукции и регуляции деления, необходимые для восстановления,

могут быть обнаружены и почти сразу после облучения, по завершению острого периода воспаления. Предварительный анализ пролиферации через неделю после дозы 5 Гр показывает сравнимую с контролем интенсивность деления стволовых клеток, что согласуется с ранее показанной возможностью быстрого возобновления пролиферации в гиппокампе после умеренных кратковременных доз ионизирующей радиации (Kim et al., 2008; Son et al., 2014; Ben Abdallah et al., 2007; Allen et al., 2013; Allen et al., 2014).

В целом, эффекты кратковременных гамма-экспозиций не обнаружили отклонений от общих закономерностей поддержания стволовых клеток. Например, в приведённых экспериментах не наблюдалось усиленной пролиферации стволовых клеток, их симметричных делений, или замедления расходования резерва покоящихся стволовых клеток. Наши данные подтверждают, что генерацию новых нейронов в гиппокампе обеспечивает лишь малая популяция стволовых клеток; вместе с тем, они показывают, что после облучения сохраняется их преимущественно асимметричный тип деления, который не позволяет увеличение резерва делящихся и покоящихся стволовых клеток, так что их тотальный пул продолжает истощаться с возрастом.

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК – МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ.

Михайлов В.Ф.¹, Шулепина Л.В.¹, Васильева И.М.², Засухина Г.Д.².

¹Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

vfmi@mail.ru

²Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия

Zasukhina@vigg.ru

К стрессовым воздействиям относятся мутагены физической (ионизирующая радиация и др.), химической (тяжелые металлы, алкилирующие соединения и др.) и биологической (афлотоксины и др.) природы. Одним из основных компонентов реализующих их действие в клетках является свободно-радикальный механизм. В дальнейшем возможно формирование различных патологий, обусловленное изменениями профиля экспрессии генов. К некодирующим РНК, контролирующим транскрипцию, регуляцию экспрессии генов, клеточную дифференциацию, апоптоз, относятся микроРНК, состоящие примерно из 20 нуклеотидов и длинные РНК, в состав которых входит более 200 нуклеотидов. Уровни экспрессии некодирующих РНК зависят как от генотипа клеток, вида тканей, так и от природы стрессового воздействия. Ионизирующая радиация относится к числу широко распространенных факторов воздействия на человека, поэтому изучение радиочувствительности в клетках человека по критерию вовлеченности генов и их регуляторов – некодирующих РНК – представляет собой новый этап в исследованиях последствий радиационного воздействия и принципиально новым подходом к вопросу диагностики, прогнозу и терапии различных патологий человека.

При генотоксических воздействиях важнейшим звеном, определяющим судьбу клетки является эффективность функционирования в ней систем сохранения стабильности генома, в первую очередь р53-зависимой системы. Стресс-сигналы индуцируют АТМ/ЧК2 и АТР/ЧК1-киназы, которые фосфорилируют р53, MDM2 и MDM4, что приводит к активации транскрипционного фактора р53, который вызывает изменения экспрессии генов, направленные на устранение нарушений в молекуле ДНК (Efeyan et al., 2007). Активируются гены, способствующие репарации ДНК, либо апоптозу (Liu, Lu, 2012). В этих процессах активное участие принимают некодирующие РНК. Так сам онкосупрессор при воздействии на промоторы РНК-генов, таких как микроРНК-34, - 15a/16; -107 ; -145; -192, -194, -215 и др. вызывает усиление их экспрессии (H. Maroof et al, 2014; *Musumeci M et al, 2011; Zhang J et al, 2012; Yamakuchi M et al, 2010; Pichiorri F et al, 2010*).

Воздействие этих микроРНК на мРНК генов–мишеней способствуют активации апоптозов, остановке прохождения клеточного цикла. Возможна и регуляция в р53-ингибирующей манере. МикроРНК-125, - 504, -33,-380, -1285 и др. за счет прямого взаимодействия с 3'UTR регионом мРНК гена *p53* способны ингибировать экспрессию р53 (Le MT, 2011; , Nu W, 2010; Herrera-Merchan A, 2010; Swarbrick A, 2010; Tian S, 2010),

Длинные РНК могут регулировать экспрессию генов на эпигенетическом, транскрипционном и пост-транскрипционном уровнях (Chaudry, 2013). Одной из длинных РНК, которая характеризуется повышением экспрессии после X-облучения является MALAT1 (metastasis-associated-in-lung-adenocarcinoma-transcript-1). Максимум экспрессии этой некодирующей РНК наблюдался через 8 часов, однако в

клетках, обработанных блеомицином, уровень экспрессии был снижен. Вместе с тем было обнаружено, что экспрессия различных длинных РНК может быть вовлечена в радиоответ, который наиболее выражен через 24 часа после облучения (Jiao et al., 2015). К радиоиндуцированным длинным РНК относится также DINO (damage induced noncoding), которая требуется для p53-зависимой остановки клеточного цикла и апоптоза (Schmitt et al., 2016). При этом показано, что p53 является и транскрипционным активатором экспрессии длинной РНК и мишенью для модуляции (Beer et al., 2016).

Нами изучался радиоответ в клетках крови здоровых доноров, радиочувствительных клетках (клетки крови пациентов с синдромом Дауна) и двух линиях злокачественных клеток (Jugar, RD) по критерию определения уровней экспрессии ряда генов (p53 и др.) и микроРНК-21, -34 и др. (Zasukhina et al., 2016, Mikhailov et al., 2017). Выявлено выраженное различие у исследованных клеток в экспрессии генов и некодирующих РНК после радиационного воздействия.

Особый интерес вызывают исследования по последствию воздействия малых доз радиации, которые остаются дискуссионными до последнего времени. Большое число исследователей полагают, что низкие дозы радиации (до 0,1 Гр *in vitro* или менее 5 мSv/день *in vivo*) могут расцениваться как фактор протекции. Вместе с тем, биологические ответы на подобные дозы радиации описываются как ответ на стресс и включают адаптацию, эффект свидетеля (bystander effect), геномную нестабильность или гиперчувствительность (Tabe et al., 2016). Были описаны различия в уровнях экспрессии микроРНК в зависимости от типа клеток. Так, в EBV-V клетках (В – клетки, инфицированные вирусом Эпштейна-Барра) отмечено повышение экспрессии микроРНК-15b, -16b, -21 и др. и снижение экспрессии в клетках, при их облучении совместно с клетками, выделенными из стромальных клеток костного мозга человека.

При изучении радиоадаптивного ответа у мышей, облученных малыми дозами радиации (0,1 Гр), была выявлена ранняя активация маркеров CD69 (относящихся к семейству С-лектинов), CD71 (являющихся рецептором трансферрина), цитокинов IL-2, IFN- γ , которые регистрировались через 24 часа после воздействия повреждающей дозы 2,0 Гр, но не сразу или 72 часа после облучения (Premkumar, Shankar, 2016). Показана гиперактивация MAPK-сигналлинга, вовлеченность MAPK/ERK и SAPK/JNK путей в активацию Т-лимфоцитов, приводящую к IL-2-продукции. Для идентификации путей MAPK-сигналлинга в радиоадаптивном ответе были выполнены работы со специфическими ингибиторами. Ингибитор P13K не отменял радиоадаптивного ответа, доказывая специфичность p38 и ERK-сигналлинга в этом феномене. Радиоответ по исследованным критериям характеризовался проявлением в течение небольшого промежутка времени. Следовательно, радиоадаптивный ответ может быть охарактеризован как феномен, проявляющийся в небольшом промежутке времени, дозовой (первичной и повреждающей) зависимостью, определяемой генотипом индивида. Авторы полагают, что низкие дозы радиации, индуцируя MAPK-сигналлинг, активируют также гены антиоксидативного ответа. В свою очередь ERK-сигналлинг индуцировал репарацию ДНК и резистентность раковых клеток. Следовательно, малые дозы радиации активируют MAPK, что может быть ассоциировано с адаптивным ответом при ДНК-повреждении.

Изучение изменений содержания некодирующих РНК в различное время после действия первичной дозы показывает возможность их участия в формировании радиоадаптивного ответа. При действии 0,1 Гр на фибробласты кожи человека был отмечен ранний ответ (6 час после облучения), связанный со значительным повышением индукции микроРНК-3656, -3125, и поздний ответ (24 часа после облучения) с выраженным изменением экспрессии микроРНК-129, -17, -1825 и др.

(Вае,2015), Одной из длинных РНК, экспрессия которой повышалась после облучения малыми дозами радиации, является PARTICLE (O'Leary, 2015).

Следует иметь в виду, что пути защиты при радиоадаптивном ответе и воздействию антимуtagens различны. Так, нами было показано, что в радиочувствительных клетках пациентов с синдромом Дауна, в которых радиоадаптивный ответ по критериям выживаемости и двойным разрывам не индуцируется, в то время как природные (ретинол, чесночный экстракт) и синтетические (краун-соединение) антимуtagens демонстрировали эффективную защиту от действия радиации по этим критериям (Zasukhina et al., 2016).

Таким образом, радиация индуцирует в клетках человека каскад специфических изменений, зависящих от дозы облучения и генотипа клеток, которые выражаются в изменении генетической активности, регулируемой некодирующими РНК (микроРНК и длинные РНК).

ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ ЧЕРЕЗ ПРИМЕРНО 30 ЛЕТ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРИ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС.

Нугис В.Ю., Галстян И.А., Давтян А.А., Козлова М.Г., Никитина В.А.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», Москва, Россия
nugisvju@list.ru

Развитие злокачественных заболеваний, в том числе, гемобластозов часто связано с влиянием различных генотоксически неблагоприятных факторов, например, с воздействием ионизирующих излучений. Так, статистически значимое учащение случаев лейкозов выявлено для различных групп населения и профессионалов, подвергшихся радиационному воздействию: медицинские работники (рентгенологи и радиологи), персонал предприятий атомной промышленности, пациенты после терапевтического облучения (вторичные лейкозы). Основным первичным источником информации о развитии радиационных лейкозов послужили длительные наблюдения за многотысячной когортой японцев, облучённых в широком диапазоне доз при атомной бомбардировке городов Хиросима и Нагасаки в 1945 г. Количество пострадавших в этой ситуации было очень велико, что и позволило сделать основной вывод о существенном увеличении частоты лейкозов, которые в обычной популяции в целом встречаются достаточно редко. Также был сделан вывод о том, что характерным является наличие латентного периода длительностью 5-10 лет, хотя лейкозы в группе облученных индивидуумов начали появляться уже спустя 1,5 года и по-прежнему превышали фоновый уровень и через 50 лет после бомбардировки. То, что лейкозы выявляются не у всех облучённых лиц и только после определённого латентного периода, позволяет предполагать, что радиация в каждом конкретном случае не является единственным действующим фактором. В соответствии с опубликованными статистическими данными в 2014 г. заболеваемость злокачественными новообразованиями лимфоидной и кроветворной тканей в России равнялась 13,06 на 100 тыс. жителей, причём вклад остро миелобластного лейкоза (ОМЛ) составил 0,89 на 100 тыс. населения. Хотя по числу пострадавших и погибших авария на Чернобыльской АЭС не сопоставима с японской трагедией, однако она до сих пор остаётся одной из крупнейших техногенных катастроф мирного времени. Ранее (2008 г.) нами среди непосредственно вовлечённых в неё лиц, которые перенесли острую лучевую болезнь (ОЛБ), было обнаружено статистически существенное учащение гемобластозов (4 случая среди 106 длительно наблюдавшихся пациентов). В 2016 г. был выявлен ещё один случай ОМЛ у участника данной аварийной ситуации, который перенёс ОЛБ II (средней) степени тяжести.. Средняя поглощённая доза была оценена в ближайшие сроки после облучения по частоте дицентриков в культуре лимфоцитов периферической крови и равнялась 4,3 Гр. Сигнал ЭПР эмали зуба в 2006 г. соответствовал дозе 4,0 Гр. При последующем длительном клиническом наблюдении (27 лет) была выявлена умеренная преходящая нестабильность гематологических показателей: лимфоцитоз, лейкопения и тромбоцитопения, которая связывалась с хроническим персистирующим гепатитом. В 2014 г. пациент перенёс трансуретральную резекцию простаты в связи с раком предстательной железы. В мае 2015 г. был проведен курс лучевой терапии с суммарной локальной дозой 35 Гр. В декабре 2015 г. появилась общая слабость, с апреля 2016 г. в общем анализе крови была отмечена трёхростковая цитопения (лейкоциты – $2,9 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты – $90 \times 10^9/\text{л}$, эритроциты – $3,56 \times 10^{12}/\text{л}$). Диагноз: острый миелоидный лейкоз, трансформация из миелодиспластического синдрома. В июне 2016 – феврале 2017 гг. пациенту было

проведено 7 курсов цитостатической терапии 5-азациитидином (вайдаза). Пациент скончался от двусторонней пневмонии в марте 2017 г.

После выявления гемобластоза дважды (через 30,1 и 30,5 лет после облучения) было осуществлено цитогенетическое исследование культуры лимфоцитов периферической крови с использованием трёхцветного FISH-метода. Сначала применяли только набор ДНК-зондов для 1, 4 и 12 пар хромосом (до начала лечения цитостатиком). Затем (после двух курсов лечения вайдазой) использовали отдельно два набора ДНК-зондов для 1, 4 и 12 пар хромосом (как в первый раз) и для 2, 3 и 8 пар хромосом. Во всех случаях основную массу обнаруженных аберраций составляли реципрокные транслокации. Частота транслокаций на геном была значимо выше (в 42-54 раза) возрастного контроля, который в среднем равнялся 1,008 на 100 метафаз, что свидетельствует о сохранении стабильных радиационно-индуцированных аберраций через более, чем 30 лет после облучения. С гораздо более низкой частотой (на 100 метафаз) наблюдались также другие (стабильные и нестабильные) перестройки хромосом: инсерции (0,12-0,40), инверсии (0,12-0,23), дицентрики: (0,20-1,15), центрические кольца (0-0,12), ацентрики (1,00-1,49). Также были обнаружены единичные мультиабберрантные клеточки, которые могли быть следствием действия как альфа-излучателей в условиях аварии на Чернобыльской АЭС, так и локальной лучевой терапии. Обращало на себя внимание наличие небольшого числа клеток с «круговым» обменом дистальными участками между 3 разноокрашенными хромосомами, что являлось следствием трёх разрывов в трёх хромосомах и не могло быть зарегистрировано при одноцветном варианте FISH-метода. Возник вопрос, как количественно оценить возникшие в этом случае транслокации? Действительно, при одной обычной транслокации происходит два разрыва в двух хромосомах, при двух независимых транслокациях – четыре разрыва в четырёх хромосомах. Поэтому мы посчитали возможным обозначить обнаруженный феномен как 1,5 транслокации, хотя некоторые авторы предлагают считать, что имеется 2 транслокации. В принципе можно перейти от подсчёта числа транслокаций к определению количества разрывов хромосом при их возникновении. Тогда одной простой транслокации будет соответствовать два разрыва, описываемому феномену – 3 разрыва и двум простым транслокациям – 4 разрыва. Сравнение распределений транслокаций по метафазам при выделении трёх классов клеток (с 0, 1 и больше, чем 1 транслокацией) показало отсутствие существенных различий по этому показателю между культурами, поставленными в разные сроки, и при использовании разных наборов ДНК-зондов ($\chi^2 = 0,08-2,93$ при $\chi^2_{05} = 5,99$), хотя первый анализ был проведен до начала лечения, а второй после двух курсов химиотерапии. Это свидетельствует, по-видимому, об отсутствии влияния вайдазы на частоту FISH-транслокаций в лимфоцитах периферической крови человека.

Также по результатам кариотипирования 21 клетки костного мозга (прямой метод) с помощью mFISH-подхода до начала лечения в 38% метафаз был выявлен аномальный комплексный клон с тетрасомией по 8 хромосоме наряду с другими перестройками хромосом. Для оценки содержания аналогичных клональных клеток в интерфазе был использован ДНК-зонд к прицентромерному региону 8 хромосомы. Было просмотрено 270 интерфазных ядер, из которых 115 имели тетрасомию по 8 хромосоме и 155 были диплоидны, что даёт 43 %. При сравнении по точному методу Фишера значимое различие между метафазным и интерфазным подходами ($p = 0,138$) не наблюдалось. Наряду с этим клоном в костном мозге имелись клоны с другими перестройками хромосом. Всё это в совокупности позволяло скептически относиться к возможности успеха терапии у нашего пациента.

При рассмотрении данного случая естественным образом возникает вопрос о этиологии и патогенезе развившегося ОМЛ. Три фактора могли привести к развитию острого лейкоза у данного пациента: 1. аварийное радиационное воздействие (с индукцией стабильных повреждений хромосом); 2. выявленное по маркерам присутствие вирусов гепатита В и С; 3. локальная гамма-терапия по поводу рака предстательной железы в суммарной дозе 35 Гр. Поэтому нами был сделан вывод о полиэтиологическом характере заболевания лейкозом в данном случае при несомненном высоком вкладе перенесенного аварийного радиационного воздействия.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНДУКЦИИ ПЕРВИЧНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ ИОНОВ С РАЗНЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ.

Панина М.С.^{1,2}, Батмунх М.¹, Бугай А.Н.¹, Пахомова Е.А.²

¹ Объединенный институт ядерных исследований, Лаборатория радиационной биологии, Дубна, Россия

² Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

Изучение индукции первичных повреждений ДНК в клетках млекопитающих после действия ионизирующей радиации является актуальной задачей современной радиобиологии. Известно, что тяжелые заряженные частицы при воздействии на клетку способны индуцировать повреждения ДНК разной степени сложности, в том числе труднорепарируемые кластерные повреждения. В настоящее время не существует экспериментальных методов, позволяющих досконально изучить механизмы индукции первичных повреждений ДНК, которые возникают в клетке в первые доли секунды после облучения. Поэтому применение методов компьютерного моделирования в этой области позволяет более полно описать закономерности молекулярных взаимодействий, лежащих в основе ответа клетки на радиационное воздействие [1,2].

В данной работе предложен подход к математическому моделированию индукции разных типов первичных повреждений ДНК (однонитевые и двунитевые разрывы, кластерные повреждения) после действия ускоренных тяжелых ионов.

С использованием программной среды Geant4-DNA проведено моделирование пространственной структуры треков тяжелых заряженных частиц. Рассчитаны пространственные распределения энерговыделения при действии различных тяжелых ионов в широком диапазоне ЛПЭ на масштабе ядра клетки. С применением алгоритма DBSCAN [3] произведена количественная оценка индукции первичных повреждений ДНК в зависимости от ЛПЭ частицы. Выполнена пространственная визуализация распределения разных типов повреждений ДНК в соответствии со структурой трека частицы. Произведена оценка степени кластеризации повреждений ДНК в зависимости от ЛПЭ частицы.

1. Nakajima N. I. et al. Visualisation of γ H2AX foci caused by heavy ion particle traversal; distinction between core track versus non-track damage //PloS one. 2013, T. 8(8), С. e70107.
2. Watanabe R., Rahmanian S., Nikjoo H. Spectrum of radiation-induced clustered non-DSB damage – A Monte Carlo track structure modeling and calculations // Radiation research. 2015, T. 183(5), С. 525-540.
3. Francis Z., Villagrasa C., Clairand I. Simulation of DNA damage clustering after proton irradiation using an adapted DBSCAN algorithm //Computer methods and programs in biomedicine. 2011, V. 101(3), P. 265-270.

МОДЕЛЬ ПОТОКОВ И ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ ГАЛАКТИЧЕСКИХ КОСМИЧЕСКИХ ЛУЧЕЙ.

Кузнецов Н.В., Панасюк М.И., Подзолко М.В., Попова Е.П.

Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
spacerad@mail.ru

Одним из факторов, который необходимо учитывать при изучении влияния экстремальных условий в космосе на жизнедеятельность человека и живых организмов, является наличие радиационных полей, состоящих из потоков высокоэнергичных заряженных частиц (ЗЧ) от разных источников. Сведения о величине этих потоков (элементный состав, энергетические спектры) и физических характеристиках их воздействия (поглощенная доза, линейная передача энергии) необходимы, чтобы планировать и оптимизировать радиобиологические исследования на наземных источниках излучения и оценивать радиационные риски во время космических полетов. Чтобы иметь эти сведения в полном объеме, в том числе, с учетом изменения потоков ЗЧ в пространстве и во времени, разрабатываются количественные модели. В настоящем докладе приводятся положения новой модели потоков ЗЧ галактических космических лучей (ГКЛ), которые являются важной частью космической радиации и в значительной степени определяют радиационные условия в межпланетном космическом пространстве.

При разработке модели были использованы временные зависимости и энергетические спектры потоков протонов и ТЗЧ (заряд ядра $z = 2-28$) ГКЛ, которые известны по результатам их измерений на космических аппаратах (IMP-8, ACE, SOHO, Voyager-2, Pioneer-10 и др.) и в баллонных экспериментах (BESS, IMAX, CAPRICE и др.). Были проанализированы данные, полученные в течение четырех последних 11-летних циклов солнечной активности (начиная с 1973 г.). Обобщение этих данных было выполнено с использованием многопараметрической формулы одного вида, описывающей энергетические спектры протонов и ТЗЧ в зависимости от среднемесячного числа солнечных пятен W и гелиоцентрического расстояния в межпланетном пространстве. Найденные значения параметров этой формулы позволяют рассчитывать потоки протонов и ТЗЧ с энергией $\sim(80 \div 10^5)$ МэВ/нуклон, изменяющиеся со временем в течение 11-летних циклов солнечной активности, и установить максимальный уровень потока ЗЧ, который может быть достигнут в современную эпоху. Эта формула также может быть использована для прогноза потоков ЗЧ ГКЛ в предстоящих циклах солнечной активности, если известен сценарий прогноза числа солнечных пятен $W(t)$ в зависимости от времени t .

В докладе предлагается сценарий изменения значений $W(t)$ до 2040 года, основанный на физической модели временной зависимости двух принципиальных компонент волновой активности фонового (основного) магнитного поля Солнца. Этот сценарий совместно с разработанной моделью предсказывает уменьшение амплитуды колебания потока ЗЧ ГКЛ в предстоящих 11-летних циклах солнечной активности.

В заключительной части доклада с использованием данных разработанной модели и имеющихся экспериментальных данных обсуждаются мощность поглощенной дозы и спектры линейной передачи энергии, которые характеризуют меру радиационных повреждений при воздействии потоков ЗЧ ГКЛ во время полетов космических аппаратов и которые должны быть ориентиром при планировании радиобиологических исследований в наземных условиях на ускорителях ЗЧ.

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ
ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ С ОЦЕНКОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
ИЗМЕНЕНИЙ ЦНС (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПЕРВОГО ГОДА РАБОТЫ ПО
ПРОЕКТУ 17-29-01001 РФФИ ОФИ).**

Ревущин А.В.¹, Поletaева И.И.²

¹Институт биологии гена РАН, Москва, Россия,

²Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова, Москва, Россия

revishchin@mail.ru, ingapoletyaeva@mail.ru

Для исследования поведенческих и морфологических последствий облучения протонами исследовали 4 группы мышей (самцы гибриды F1 CBA x C57BL, возраст 4 мес.). В группах с облучением было по 5 мышей, в контрольной группе, которая подвергалась процедуре перевозки в Дубну, но облучению не подвергалась, было 4 мыши. При проведении тестов использовали также группу контрольных животных, которые не транспортировались в Дубну (10 самцов того же возраста и генотипа). Для оценки данных показатели обеих контрольных групп обрабатывались одним массивом, как и данные по облучению мышей разными дозами радиации. Мыши экспериментальных групп получили дозы облучения протонами соответственно 1, 2 и 4 Gy. Поведенческие тесты включали: 1) тесты, где от животного требуется проявление способности к решению элементарной логической задачи - тест на способность к экстраполяции, тест на поиск входа в укрытие; 2) тест, оценивающий уровень исследовательской активности животных «малое открытое поле» (небольшая арена с неярым освещением); 3) набор тестов «лабиринт-щелчок-воронка» (по Р.М. Салимову), тест на раскапывание стружки, тест «светло-темная камера», тест на щипковую каталепсию. Тесты на способность к экстраполяции и на поиск входа в укрытие повторили 3 раза –1) для оценки «фона», до облучения; 2) через 2 недели после облучения, 3) через 2 месяца после облучения.

Были получены следующие предварительные результаты поведенческих экспериментов:

1. В тестах на экстраполяцию и на поиск входа в укрытие принципиальных отличий в поведении облученных и контрольных мышей не было обнаружено. По некоторым показателям поведение облученных мышей было даже несколько более адекватным, чем поведение мышей контрольных групп, однако эти различия статистически недостоверны.
2. Тест «малое открытое поле» (небольшая арена с неярым освещением) показал несколько более высокий уровень общей активации поведения у мышей через 2 мес после облучения по сравнению с контрольными. У облученных мышей было достоверно больше врожденных исследовательских реакций (стойки и заглядываний в отверстия, $p < 0.05$).
3. У мышей контрольной группы было выше число актов дефекации и число эпизодов замирания по сравнению с облученными (различия недостоверны).
4. Показатели теста на раскапывание стружек (врожденная реакция) у облученных и контрольных мышей практически не различалась (но м.б. она была несколько более слабая у мышей после облучения).
5. Щипковую каталепсию обнаружили у большего числа мышей в группе облученных по сравнению с контрольной группой.

Были проведены предварительные эксперименты по выявлению эффектов гипертермии - нагревания животных до 39.5° С в течение 1.5 часов. Тестирование этих животных в тесте малое открытое поле через 72 часа после гипертермии показало более

высокую активность мышей экспериментальной группы ($n=6$) по сравнению с интактным контролем ($n=5$) (по числу вертикальных стоек), а также более короткие латентные периоды в решении теста на поиск входа в укрытие.

Материал для морфологических исследований был взят через 4 месяца после облучения, поэтому исследование уровня нейрогенеза в гиппокампе у мышей после облучения еще не проводилось. Предварительная оценка общего количества клеточных элементов в головном мозге не выявило достоверных различий. Пробные оценки уровня нейрогенеза у мышей после гипертермии не обнаружили значимых различий, видимо, в связи с малыми размерами выборок.

Для выявления возможности получить значимые различия между облученными и контрольными животными, при следующих сеансах облучения протонами следует предусмотреть группу животных с увеличенной дозой облучения (положительный контроль). Для исследования влияния облучения на пролиферацию в гиппокампе будет предусмотрена группа животных, морфологический материал от которой будет взят менее чем через 7 дней после облучения.

ИНТЕНСИВНОСТЬ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА У КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ ИЗ ЗОНЫ ЛОКАЛЬНОГО РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ.

Ракитин С.Б., Ялковская Л.Э., Григоркина Е.Б.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия,
rakitin@ipae.uran.ru

Интенсивность мутационного процесса у живых организмов варьирует в зависимости от множества внутригеномных, физиологических и средовых факторов. В условиях техногенного загрязнения различной природы следует ожидать увеличение его скорости как за счёт непосредственного влияния токсикантов или физических факторов на структуру ДНК, так и в результате опосредованного воздействия через нарушение процессов репликации и репарации. Проблема последствий радиационного воздействия на биоту в настоящее время имеет особую актуальность. Возрастание частоты мутаций, индуцированных ионизирующим излучением, показано во многих экспериментальных работах (Searle, 1974; Russell, 2013; Ломаева и др., 2016; Дуброва, 2016). Однако возникновение и элиминация генетических нарушений у организмов, существующих в естественных условиях обитания, происходит иначе, чем при облучении в лабораторных условиях. В связи с этим особую ценность представляют результаты исследований интенсивности мутагенеза в природных популяциях животных и растений. В этом отношении Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС), образовавшийся в результате крупномасштабной радиационной катастрофы 1957 года на ПО «Маяк» в Челябинской обл., является уникальным научным полигоном, позволяющим изучать воздействие радиации на живые организмы и окружающую среду в естественных условиях. Конфигурация зоны ВУРСа - узкая протяженная территория с резко падающим градиентом радиоактивного загрязнения - обусловлена метеорологическими условиями в момент аварии и в начальный период после неё (Тетерин, 2011). Основной вклад (95.7%) в радиоактивное загрязнение зоны ВУРСа вносит ^{90}Sr аварийных выпадений (Molchanova et al., 2009, Михайловская и др., 2011). Дозовые нагрузки, получаемые живыми организмами в настоящее время, относятся к области малых доз (Никипелов и др., 1990).

Мелкие млекопитающие из зоны ВУРСа традиционно и успешно используются для изучения различных аспектов мутагенеза (Дубин и др., 1972; Шевченко и др., 1993; Гилева и др., 1996; Ялковская и др., 2010). В данной работе в качестве маркеров интенсивности мутационного процесса на молекулярном и хромосомном уровнях организации генома впервые одновременно использованы – уровень полиморфизма микросателлитной ДНК и частота структурных хромосомных нарушений в соматических клетках, соответственно. У модельного вида – красной полевки (*Myodes (=Clethrionomys) rutilus*) изучена интенсивность мутационного процесса в выборках из зоны ВУРСа, с сопредельной и удаленной фоновых территорий.

Импактный участок (Урускуль) расположен на оси следа примерно в 20 км от эпицентра аварии в окрестностях оз. Урускуль, запас радионуклидов в слое почвы 0 – 45 см: ^{90}Sr – 7625 кБк/м², ^{137}Cs – 225 кБк/м². Сопредельный фоновый участок – Метлино – расположен за пределами ВУРСа в 9 км от импактного в окрестностях оз. Кожакуль, запас радионуклидов в слое почвы 0 – 45 см: ^{90}Sr – 190 кБк/м², ^{137}Cs – 128 кБк/м² (Molchanova et al., 2009). Географически удаленный контроль (референтная выборка) – окрестности с. Шигаево (Свердловская обл., Шалинский р-н), находящееся на расстоянии 220 км от двух других участков, где документирован глобальный уровень техногенного загрязнения (Gileva et al., 2008). У 56 полевок, отловленных в 2006 году в 3-х исследуемых локалитетах, проанализирована изменчивость 4-х микросателлитных локусов (MSCg4, MSCg9, MSCg15, LIST-3-003), состоящих из

динуклеотидных повторов (Gockel et al., 1997; Barker et al., 2005). Тотальную ДНК выделяли из мышечной ткани грызунов. У полевок из выборок "Урускуль" и "Шигаево" параллельно была определена частота хромосомных aberrаций в метафазных клетках костного мозга. У грызунов с сопредельной ВУРСу территории (Метлино) в 2006 году уровень хромосомной нестабильности оценить не удалось, поэтому в работе приводятся данные за 2008-2009 годы (межгодовых различий по частоте хромосомных aberrаций не выявлено: $\chi^2=1.498$, $df=1$, $P=0.221$).

Показатели генетического разнообразия (усредненные по 4-м микросателлитным локусам) и доля клеток с aberrациями хромосом в 3-х выборках красной полевки представлены в таблице. У грызунов из зоны ВУРСа (Урускуль) обнаружено наибольшее значение средней ожидаемой гетерозиготности, среднего эффективного числа аллелей на локус, аллельного разнообразия и индекса Гарза-Вильямсона (отношение числа аллелей к диапазону их размеров). В остальных выборках средняя наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность также была высокой и близкой к значениям, наблюдавшимся ранее у других видов грызунов (Rikalainen et al, 2012). Следует подчеркнуть, что ряд показателей генетического разнообразия (средняя наблюдаемая гетерозиготность и число уникальных аллелей) оказался наиболее высоким у животных с сопредельной ВУРСу территории (Метлино). Кроме того, в данной выборке наблюдается наибольший эксцесс гетерозигот, о котором свидетельствует высокое отрицательное значение индекса фиксации Райта. Генетическая структура импактной (Урускуль) группировки значительно отличается от сопредельной фоновой ((Метлино) $F_{st}=0.019$, $P=0.043$) и референтной выборок ((Шигаево) $F_{st}=0.022$, $P=0.016$). В то же время у грызунов из фоновой и референтной выборок не выявлено значимой межпопуляционной дифференциации ($F_{st}=0.115$, $P=0.070$), несмотря на значительное расстояние между ними.

Таблица. Показатели генетического разнообразия и доля клеток с aberrациями хромосом у красной полевки

Показатель	Локалитет		
	Урускуль	Метлино	Шигаево
Число животных (N)	13	15	28
H_E	0.874	0.849	0.845
H_O	0.865	0.867	0.857
F_{IS}	0.010	-0.022	-0.015
Среднее число аллелей на локус	8.75	9.25	9.25
Среднее эффективное число аллелей	6.54	5.90	6.40
Число уникальных аллелей	1	3	1
Аллельное разнообразие	8.75	8.74	8.18
Индекс Гарза-Вильямсона	0.478	0.388	0.470
Доля клеток с aberrациями хромосом, %	1.85	1.00*	0.79

Примечание. H_E – средняя ожидаемая гетерозиготность; H_O – средняя наблюдаемая гетерозиготность; F_{IS} – индекс фиксации Райта; * – данные для выборки животных (N=22) за 2008-2009 гг. исследования, все остальные данные за 2006 год.

Частота хромосомных aberrаций имеет максимальное значение у полевок из зоны ВУРСа (табл.), более чем в два раза превосходящее наблюдаемое в контроле (Шигаево) – различия достоверны: $\chi^2=4.499$, $df=1$, $P=0.034$. Уровень хромосомных нарушений у грызунов с сопредельной ВУРСу территории (Метлино) близок к контрольному значению и достоверно не отличается от него ($\chi^2=0.324$, $df=1$, $P=0.569$), при этом отличия от импактной выборки (Урускуль) так же оказались не значимы ($\chi^2=2.255$, $df=1$, $P=0.135$).

Для оценки влияния остеотропных радионуклидов на интенсивность мутагенеза был проведен анализ связи доли клеток с aberrациями хромосом и удельной активностью ^{90}Sr в костной ткани полевок из зоны ВУРСа на индивидуальном уровне, в результате была обнаружена тенденция к положительной корреляции ($R_s=0.293$, $N=35$, $P=0.089$), в случае с уровнем наблюдаемой гетерозиготности по микросателлитным локусам подобная тенденция не установлена ($R_s=0.093$, $N=13$, $P=0.763$). Связь между уровнем хромосомной нестабильности и гетерозиготностью по микросателлитным локусам отсутствовала ($R_s=-0.117$, $N=41$, $P=0.466$). По-видимому, это связано с тем, что в соматических тканях индивидуумов без ярко выраженной патологии набор аллельных вариантов по большинству микросателлитных локусов сохраняется на протяжении всей жизни. Поэтому в мышечной ткани мы регистрируем как спонтанную, так и радиационно-индуцированную нестабильность генома, передающуюся через половые клетки родителей в соматические ткани потомства. В случае изучения хромосомной нестабильности в костном мозге животных мы имеем дело с оценкой актуального уровня мутагенеза. Кроме того, в наблюдаемую картину существенный вклад может вносить миграционная активность грызунов в районе исследований, где ширина полигона с плотностью исходного загрязнения ^{90}Sr , равной 1000 Ки/км^2 , составляет всего лишь 800 м , $500 \text{ Ки/км}^2 - 1400 \text{ м}$, $250 \text{ Ки/км}^2 - 1580 \text{ м}$, $50 \text{ Ки/км}^2 - 1800 \text{ м}$ (Григоркина, Оленев, 2013). Поэтому логично ожидать наличие такой связи только у резидентов ВУРСа, обитающих на его территории в течение нескольких поколений, следовательно, общепопуляционные оценки геномной нестабильности в данном случае являются, по всей видимости, более адекватными, хотя и «размытыми» вследствие миграционных процессов и мозаичности радиоактивного загрязнения.

На основании результатов анализа двух маркеров интенсивности мутационного процесса можно заключить, что на территории ВУРСа у красной полевки наблюдается повышенный уровень геномной нестабильности - выборка грызунов из зоны ВУРСа отличается наиболее высокими уровнями полиморфизма микросателлитной ДНК и цитогенетической нестабильности по сравнению с удаленной референтной группировкой. При этом обнаружено повышение ряда параметров внутривидового генетического разнообразия на сопредельном зоне ВУРСа участке, где уровень радиоактивного загрязнения соответствует фоновым величинам. По-видимому, это связано с миграционной активностью грызунов и особенностями конфигурации зоны радиоактивного загрязнения. Несомненно, необходимы дальнейшие комплексные исследования с привлечением новых маркеров интенсивности мутагенеза и увеличением объема анализируемых выборок. Тем не менее, повышенный уровень хромосомной нестабильности и возрастание ряда показателей генетического разнообразия у красных полевок из зоны ВУРСа могут свидетельствовать в пользу существования параллелизма между интенсивностью мутабельности на разных уровнях организации генома.

Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований УрО РАН (проект № 15-2-4-21).

АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ СОВРЕМЕННОЙ РАДИОБИОЛОГИИ.

Рождественский Л.М., Михайлов В.Ф., Осипов А.Н.

ГНЦ ФМБЦ им. А.И.Бурназяна, Москва, Россия

lemrod@mail.ru

Современный этап развития радиобиологических исследований характеризуется использованием молекулярно-генетических технологий для продвижения в относительно мало изученных и в то же время представляющих большой практический интерес областях воздействия ионизирующих излучений на биообъекты и человека. В качестве таких областей можно назвать действие радиации при космических полетах с особой ролью высокоэнергетических тяжелых атомов, пролонгированное воздействие низкоэнергетической редкоизионизирующей радиации при радиационных аварийных, военных и террористических инцидентах, не до конца проясненные аспекты действия относительно малых доз в отношении опасных для здоровья отдаленных последствий. При этом наряду с разработкой теоретических аспектов радиобиологии решаются важные прикладные задачи. Таковыми являются и выявление маркеров различных радиационных эффектов, прежде всего, отдаленных последствий, и изыскание новых противолучевых средств, способных ослабить развитие таких последствий.

Из известных имевших место сценариев радиационного воздействия на человека более или менее медикаментозно обеспеченными являются только острые воздействия редкоизионизирующей радиации (постлучевая терапия). При этом апробированными на практике являются, прежде всего, поддерживающая терапия антибиотиками и противогеморрагическими средствами, в меньшей степени длительная цитокриновая терапия. Из препаратов ранней терапии наиболее разработан в эксперименте и разрешен к применению на человеке в качестве средства экстренной терапии цитокин интерлейкин-1 β (беталейкин), но он слабо продвигается в медицинскую практику.

В ФМБЦ им. А.И.Бурназяна в течение нескольких лет осуществляется проект по поиску как молекулярно-генетических маркеров отдаленных последствий пролонгированного (21 ч) низкоэнергетического (10 мГр/мин) γ -радиационного воздействия (12 Гр), так и противолучевого средства для ослабления таких последствий. В качестве противолучевых средств используются рекомендованные к применению у человека беталейкин (как средство экстренной терапии) и рибоксин (при низкоинтенсивном воздействии). Исследования проводятся на мышцах с анализом показателей состояния системы гемопоэза, структурной целостности (2-нитевые разрывы) и функциональной активности (экспрессия P53 и микроРНК -125, -145) ДНК клеток селезенки и костного мозга через различные отдаленные сроки (от 3-х до 10-и мес). К настоящему времени отмечены такие реакции как появление спленомегалии (примерно у трети мышей), сопровождающейся развитием анемии, изменения экспрессии P53 и микроРНК, увеличение выхода гистона γ H2AX и повреждения ДНК (метод комет). Наибольшее влияние на экспрессию P53 в сторону повышения через 3 и 6 мес оказывал беталейкин, рибоксин действовал аналогично только через 3 мес. Отмечено ослабление беталейкином повреждений ДНК по фокусам гистона γ H2AX в клетках селезенки через 3 мес, но это требует дополнительных исследований. Более надежно выявлен позитивный эффект беталейкина по показателю деградации ДНК в селезенке (метод комет).

Указанный проект знаменует переход к новому направлению в разработке противолучевых средств, связанному с противодействием такой распространенной патологии как рак и фиброз, но только на радиационной модели. В настоящее время остается неясным, окажутся ли разработанные в эксперименте на моделях острого

облучения противолучевые препараты (по новой классификации одного из соавторов оксидомодуляторы и иммуномодуляторы) способными эффективно ослаблять отдаленные эффекты облучения, или для этого потребуются препараты, активирующие принципиально иные сигнальные цепочки (прежде всего, систему P53 и сопряженных с ним микроРНК),

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И
МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ
МОЗЖЕЧКА КРЫС В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ
ИОНАМИ УГЛЕРОДА ^{12}C .**

Северюхин Ю.С.^{1,3}, Буденная Н.Н.¹, Тимошенко Г.Н.¹, Иванов А.А.^{1,2,3}

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

²Государственный научный центр Российской Федерации - Институт Медико-Биологических проблем РАН, Москва

³Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна, Москва

E-mail: yucucumber@mail.ru

Исследование воздействия тяжелых заряженных частиц, входящих в состав галактического космического излучения, на центральную нервную систему космонавтов является важной задачей при оценке радиационного риска межпланетных полетов. В рамках модельного эксперимента, проведенного на базе Объединенного Института Ядерных Исследований (ОИЯИ), были изучены цитологические эффекты, возникающие в мозжечке крыс под действием тяжелых ионов углерода ^{12}C с энергией 500 МэВ/нуклон. Воздействие тяжелыми заряженными частицами на организм животного привело к существенному увеличению относительного числа деструктивно измененных нейронов в коре мозжечка. Динамика формирования морфологических изменений указывает на наличие более выраженных радиационных эффектов в ЦНС при облучении тяжелыми ионами.

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕННОСТИ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ МЫШЕЙ В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УСКОРЕННЫМИ ИОНАМИ УГЛЕРОДА С ЭНЕРГИЕЙ 450 МэВ/н.

*Сирота Н.П., Кузнецова Е.А., Митрошина И.Ю., Смирнова Е.Н., Романченко С.П.,
Дюкина А.Р., Заичкина С.И.*

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино
Московской области, Россия,
sirota@iteb.ru

Поврежденность ДНК лейкоцитов периферической крови оценивали у индивидуальных животных в течение длительного времени (1-75 суток) после облучения ускоренными ионами углерода в дозах 6,0- 6,5 Гр. Структурные повреждения в ДНК индивидуальных клеток регистрировали щелочной версией метода ДНК-комет. Показано наличие повреждений в ДНК лейкоцитов этих животных в течении всех сроков исследования

Объекты и условия облучения. Наркотизированных смесью ксилазил+золетил мышей неинбредной линии SHK облучали в помещении временного радиобиологического стенда ускорительного комплекса У-70 (г. Протвино) пучком ускоренных ионов углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в режиме медленного вывода 1 раз в 8 сек, длительность выпуска – 0,6 сек. Для получения кривой «доза-эффект» животные были облучены в диапазоне от 0,1 до 6,5 Гр в пике Брэгга. На каждую экспериментальную точку использовали 3-6 мышей. Дозиметрия проводили с помощью пленки «ЕВТЗ» (Gafchromic®film) и контролировали с помощью нейтронного монитора с детектором тепловых нейтронов внутри.

Для оценки отдаленных последствий облучения ионами углерода в дозе 6,0 Гр аликвоты крови (5 мкл) отбирали при надрезании кончика хвоста животного за сутки до и через 1, 4, 14, 22, 30 и 75 суток после окончания облучения.

В другой серии экспериментов мыши или клетки периферической крови в составе агарозных слайдов подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозах 1-8 Гр на установке «РУТ-250-15-1» (Россия) при мощности дозы 1,12 Гр/мин, напряжении 200 кВ, силе тока 20 мА, фильтры 1 мм Al и 1 мм Cu, фокусное расстояние 37 см.

Спленоциты, лимфоциты и клетки костного мозга получали, как указано в работе (Кондратьева И.А., и др., Практикум по иммунологии, Изд. МГУ, М., 2001).

Метод «комета тест». Оценка поврежденности ДНК проводили согласно ранее опубликованного протокола (Bull Exp Biol Med. 2013;155(6):757-9.) по параметру - процент ДНК в хвосте «кометы» (%TDNA). На каждую экспериментальную точку анализировали по 3 слайда, не менее 50 клеток на слайд. Статистический анализ проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты. Длительная прижизненная оценка влияния генотоксического воздействия на организм в отдаленные сроки возможна только при работе с малыми аликвотами периферической крови. Первоначально мы сравнили уровни повреждений ДНК в лейкоцитах цельной крови, изолированных лимфоцитах и спленоцитах мыши после воздействия рентгеновского излучения в дозах 1-8 Гр. Обнаружено, что поврежденность ДНК во всех исследованных типах клеток и дозах облучения практически не отличалась. Уровень повреждений ДНК клеток костного мозга при дозе 8 Гр также достоверно не отличался от такового в лейкоцитах, лимфоцитах и спленоцитах. Таким образом, регистрируемый в лейкоцитах периферической крови уровень повреждений ДНК может быть индикатором поврежденности ДНК в клетках костного мозга и селезенки при прижизненной оценке реакции облученного организма.

Оценка уровня повреждений ДНК лейкоцитов в зависимости от дозы через сутки после облучения мышей ионами углерода. В этой серии экспериментов обнаружено немонокотное возрастание уровня повреждений ДНК с ростом доз до 2 Гр, а при дозах 6-6,5 Гр наблюдалось снижение по сравнению с дозой 2 Гр. В отличие от этого, через сутки после облучения мышей рентгеновским излучением в дозах 1-5 Гр не обнаружено существенных изменений в уровнях повреждений ДНК, достоверно отличающихся от контроля, как для лейкоцитов периферической крови, так и клеток костного мозга, по-видимому, вследствие процессов репарации ДНК и клеточного обновления. В тоже время необходимо отметить, что после воздействия ионов углерода в дозах 0,1-1,5 Гр в этот срок наблюдалось снижение количества лейкоцитов, как и после рентгеновского излучения.

Оценка уровня повреждений ДНК лейкоцитов крови в разные сроки после облучения мышей ионами углерода в дозе 6 Гр. Обнаружены немонокотные изменения в %TDNA: через 3 суток после облучения наблюдался рост уровня повреждений, через 21-24 суток - его снижение по сравнению с 3 , а через 28-30 снова наблюдалось повышение уровня повреждений ДНК по сравнению с 24 , которое снижалось лишь к 75 суткам, но не достигало контрольного уровня. Характер изменения уровня поврежденности ДНК похож на таковой у мышей после воздействия сублетальных доз рентгеновского излучения. Так, ранее мы показали (Радиационная биология. Радиоэкология, 2014, 54, 341-349), что у облученных в дозе 5 Гр мышей в пострационационном периоде от 6-ти часов до 3 суток происходит увеличение %TDNA с максимумом на 3 сутки. Согласно литературным данным анализа клеточной кинетики после облучения, этот срок соответствует дегенеративной фазе, а через 8-14 суток наблюдалось уменьшение средней величины %TDNA, что соответствует фазе abortивного подъема. Через 28 суток после облучения, в регенеративной фазе, сопровождающейся гиперпродукцией клеток, наблюдается увеличение среднего значения %TDNA, которое, вероятно, обусловлено уменьшением количества клеток до средних величин нормы, в связи с их частичной гибелью. Аналогичные процессы могут происходить и при облучении мышей пучком ионов углерода, но восстановления уровня повреждений ДНК до контрольного значения не наблюдается даже через 75 суток. Здесь необходимо отметить, что регистрируемый в разные сроки после облучения уровень повреждений ДНК в лейкоцитах представляет собой результат процессов, протекающих в кроветворных органах, где важную роль играют клетки микроокружения, обеспечивая выход в кровеносное русло клеток крови. Повышенный уровень повреждений ДНК лейкоцитов в отдаленные сроки отчасти может быть обусловлен возникновением в разных типах клеток кластерных повреждений ДНК, которые, как известно, формируются при воздействии тяжелыми ионами и являются трудно- или нерепарируемыми. Кроме того, повышение уровня повреждений ДНК может быть связано с внутриклеточной генерацией митохондриями активных форм кислорода, которая, как известно, продолжается в течение некоторого времени после воздействия радиации, и с процессами элиминации и восстановления поврежденных митохондрий.

НОВЫЙ ПОДХОД: РАСШИРЕННАЯ МОДЕЛЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ ОБАТУРОВА КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ПУЧКАХ ТЯЖЁЛЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ ЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ GEANT4.

Соловьев А.Н.^{1,2}, Потетня В.И.¹, Чернуха А.Е.¹, Ульяненко С.Е.¹

¹ – МРНЦ им А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава РФ,
Обнинск, Россия

² – НИЦ «Курчатовский институт» - ИФВЭ, Протвино, Россия
salonf@mrtc.obninsk.ru

Системное описание эффектов действия излучения тяжёлых заряженных частиц является необходимой основой для их клинического применения. К известным моделям, которые на практике используются при радиотерапии ионами углерода, можно отнести LEM и МКМ, которые используются в Германии и Японии соответственно. Китайские исследователи для лечения на ионных пучках используют расширение модели LEM. Модель Г. М. Обатурова, которая разрабатывалась им в 1980-90е годы, потенциально так же может применяться в задачах лучевой терапии ионными пучками, так как позволяет получить прогноз выживаемости клеток в зависимости от различных характеристик излучения. Однако, на момент написания работ, не существовало надёжных способов измерения или математического моделирования пространственной структуры трека частиц. Целью настоящей работы являлся всесторонний анализ статического варианта модели Обатурова (оценка на бесконечно отдалённом промежутке времени после облучения) для выживаемости клеток млекопитающих и адаптация модели на основе математического моделирования структуры трека заряженной частицы для последующего применения в прикладных задачах радиобиологии, с потенциалом применения для лучевой терапии.

В качестве основы новой расширенной модели были приняты постулаты и формулы, описанные Г.М. Обатуровым в книге 1987 года «Биофизические модели радиобиологических эффектов» и статье 1993 года «Model of mammalian cell reproductive death», в том числе постулат о том, что все одиночные разрывы являются реparable. Согласно Обатурову, часть одиночных разрывов может вызывать генные мутации, однако они не являются летальными для клетки. По этой причине, в настоящей работе выход одиночных разрывов не моделировали вообще. Дополнительно, было принято предположение о том, что треки вторичных, третичных и т. д. фрагментов, которые получаются в результате ядерных взаимодействий исходного иона с веществом, обладают независимым характером действия. Объединённое сечение инактивации клетки в терминах Обатурова является линейной комбинацией сечений инактивации первичного трека и каждого из фрагментов. Помимо этого, отдельную добавку в сечение инактивации вносят дельта-электроны.

Для всех расчётов, выполненных в Geant4-10.02, использовалась модель ядерного каскада INCLXX для неупругих взаимодействий, стандартная модель упругих (G4HadronElasticPhysics), а также модель электромагнитных взаимодействий G4EmStandardPhysics_option3, которая использует модели Клейна-Нишины и Зельцера-Бергера для гамма-квантов и электронов соответственно и рекомендуется авторами Geant4 для высокоточных расчётов взаимодействий электронов, адронов и ионов в отсутствие магнитных полей. Дополнительно в ряде расчётов по выходу двойных разрывов при действии протонного трека использовалась физическая модель Geant4_DNA.

Модель выживаемости Обатурова можно записать следующей формулой:

$$S(D) = e^{-\alpha_1 D}$$

Однако коэффициент α_1 представляет собой сложный коэффициент, зависящий от распределения $f(Z_1)$ удельной энергии в микродозиметрическом событии:

$$\alpha_1 = \left\{ 1 - \int_0^{\infty} f(Z_1) e^{-m_1^1(Z_1)} dZ_1 \right\} / \bar{Z}_1$$

Распределения удельной энергии по треку для каждой частицы рассчитывали с помощью Geant4. Сложносоставной коэффициент m_1^1 , имеющий смысл выхода числа летальных мутаций, рассчитывали по следующим формулам (из предположения, что он распределён по закону Пуассона):

$$\bar{m}_1^1 = a_0(\omega_2 - b_0 \ln[1 + c_1 \omega_2])$$

$$a_0 = \omega_1 \left(\frac{M}{\sigma} \right)$$

$$b_0 = \left(\frac{K_0 \sigma}{M} \right) \left[1 - \left(\frac{2\omega_2}{\omega_1} \right) \right]$$

$$c_0 = \frac{M}{\sigma K_0}$$

При этом величина σ - общее сечение инактивации, которое рассчитывалось для протонов с использованием одного из примеров Geant4-DNA, модифицированного с собственным ранее разработанным быстройдействующим алгоритмом кластеризации, а затем «масштабировалось» для других частиц; величины ω_1, ω_2 связаны с пространственной структурой трека. Величины K_0 и M - некоторые параметры, отражающие характеристики конкретной клеточной линии и стадии клеточного цикла. Для данной работы все значения величин $\omega_1, \omega_2, K_0, M$ были взяты из публикаций Обатурова, однако в дальнейшем представляет несомненный интерес модельное и экспериментальное исследование параметров модели.

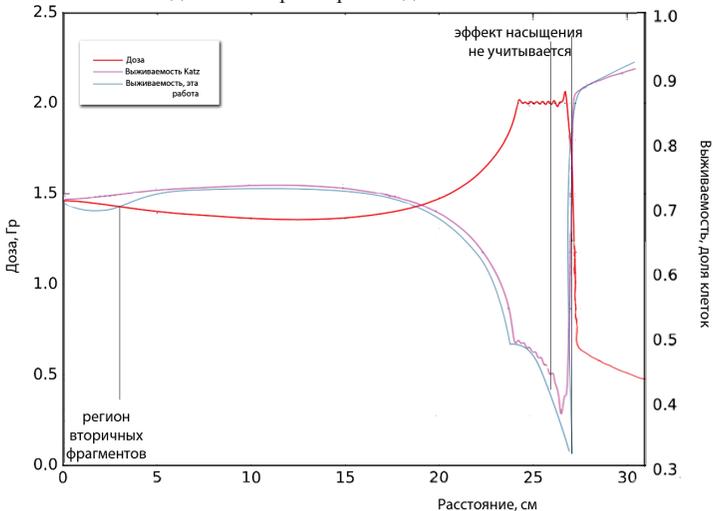


Рис.1. Оценка выживаемости по глубине модифицированного пика Брэгга ионов углерода

С использованием данной модели была получена расчётная кривая выживаемости клеток HSG (см. рис. 1), находящихся в фазе G0 (объем зоны хроматина в ядре - $1,13097 \cdot 10^{-10} \text{ см}^3$, масса - $1,19883 \cdot 10^{-10} \text{ г}$, из неё геномом занято $4,05894 \cdot 10^{-12} \text{ см}^3$, данные величины использовались для вычисления сечений инактивации) при

облучении ионами углерода в расширенном пике Брэгга, которая была сравнена с предсказанием модели Katz из библиотеки libamtrack с открытым исходным кодом (DKFZ, Германия).

Результаты показывают, что в модели Обатурова, по всей видимости, не полностью предсказывается насыщение в конце трека («overkill»), однако, мы предполагаем существование некоторого нелинейного эффекта в начале пробега на входе в облучаемый объект. С физической точки зрения этот регион («build-up») характеризуется зоной преимущественного формирования вторичных фрагментов.

На настоящий момент времени не было проведено работ, направленных непосредственно на проверку разработанной модели, однако ретроспективный анализ данных, полученный на биологических культурах во время проведения экспериментов на Временном радиобиологическом стенде ускорительного комплекса У-70, НИЦ «Курчатовский институт» - ИФВЭ, показывает хорошее соответствие улучшенной модели Обатурова экспериментальным данным в зоне модифицированного пика Брэгга, полученного с использованием пассивного модификатора. Дальнейшее развитие предложенного подхода позволит получить качественно новую модель описания системного действия излучения ионов, которая может быть применена в системах планирования лучевой терапии.

ВЛИЯНИЕ МАЛОЙ ДОЗЫ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА В ПИКЕ БРЭГГА НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ В ПОЗДНИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ.

Сорокина С.С., Мальков А.Е., Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия,
Пушино
sv0723@yandex.ru

В последние десятилетия выдвинут ряд важных практических задач, решение которых требует детального изучения механизмов биологического действия тяжёлых ионов высоких энергий на организм. Одна из них связана с активным применением ускоренных ионов разных энергий для лечения онкологических заболеваний, поскольку этот вид излучения не только эффективно подавляет рост опухолевых клеток, но и позволяет уменьшить повреждающее воздействие на окружающие здоровые ткани. Кроме того, возникла проблема оценки влияния курсов радиотерапии на когнитивные функции больного, поскольку это часто ухудшает качество жизни после лечения. Вторая задача связана с развитием космической радиобиологии, так как планируются полёты на Луну и Марс, когда экипажи будут подвергаться воздействию галактического излучения, в спектре которого преобладают протоны и ионы высоких энергий - углерода и железа. Исследование низких и средних доз ионов углерода, сопоставимых с прогнозируемыми дозами во время длительных полётов, позволит оценить вклад этого типа излучений не только в генетический риск в общем спектре действия неблагоприятных космических факторов, а также влияние на когнитивные функции человека, что позволит скорректировать нормы лучевых нагрузок на персонал, работающий на предприятиях со смешанными полями излучений. Экспериментальные данные по изучению действия на ЦНС излучений, встречающихся в условиях авиационных и космических полётов, в основном накоплены при исследовании космонавтов и астронавтов. Другой возможностью для изучения влияния галактических излучений и поисков защиты от них является моделирование радиационных условий полётов на высокоэнергетических ускорителях с использованием животных. На сегодняшний день фундаментальных исследований биологического действия малых и средних доз ускоренных ионов углерода с различными физическими характеристиками *in vitro* не достаточно, а работы *in vivo* на животных проводятся в мире в единичных Лабораториях.

Целью нашей работы являлось исследование влияния ускоренных ионов углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в пике Брэгга в дозе 0.7 Гр на поведение мышей с помощью тестов «открытое поле», лабиринт Барнса и распознавание нового объекта, и морфологическую структуру гиппокампа в поздние сроки после облучения.

Эксперименты проводили на 2х-месячных самцах мышей колонии SHK весом 28-32 г. Перед облучением животных помещали на платформу в специальных контейнерах. Облучение однородным пучком ядер углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в пике Брэгга в дозе 0.7 Гр, сформированным «воблер» магнитом, осуществляли в помещении временного радиобиологического стенда ускорительного комплекса У-70 (ИФВЭ НИЦ "Курчатовский институт" г. Протвино). Режим облучения – импульсный, цикл вывода 1 раз в 8 с, длительность выпуска – 0.6 с. Дозу облучения контролировали с помощью дозиметрической пленки «ЕВТЗ» (Gafchromic®film), закреплённой на торце контейнера с мышами со стороны падающего пучка, и нейтронного монитора. Для оценки влияния наркотизации во время облучения пучком ионов углерода контрольные животные были также наркотизированы смесью ксилазин+золетил. В каждой экспериментальной группе было 5 мышей.

Через 2 мес после облучения для оценки общей активности, пространственного обучения, долговременной и кратковременной гиппокамп-зависимой памяти мышей использовали следующий набор методик: «открытое поле», лабиринт Барнса и распознавание нового объекта. В результате проведённых экспериментов обнаружено, что в группе облучённых животных по сравнению с контролем значительно снижена общая активность по тесту «открытое поле», что свидетельствует о развитии состояния тревожности. Обе группы животных продемонстрировали хорошее обучение в течение 3 дней в лабиринте Барнса, однако, в тесте долговременной памяти контрольные животные показали меньшее число ошибок в нахождении «норки»-мишени по сравнению с экспериментальной группой. Для исследования нарушений функций непространственной гиппокамп-опосредованной кратковременной памяти был применён тест распознавания нового объекта. Тест позволяет выявить избирательное действие на внимание и эпизодическую память. В результате проведённого эксперимента было показано, что мыши как контрольной, так и экспериментальной групп, проводят у нового объекта больше времени, чем у знакомого, ярко демонстрируя исследовательское поведение.

После проведения поведенческих тестов животных декапитировали и готовили гистологические препараты дорзального гиппокампа для оценки его морфологического состояния методом окрашивания по Нисслию и регистрации поздних признаков нейрональной дегенерации с помощью флуоресцентного красителя FJB. Для статистического анализа использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Во всех случаях применяли двусторонние альтернативные гипотезы. U-критерий Манна-Уитни был выбран, так как он не требует наличия нормального распределения сравниваемых совокупностей и равенства их дисперсий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Методом окрашивания по Нисслию в группе облучённых животных выявили снижение количества нейронов в дорзальном гиппокампе по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженное уменьшение плотности клеток наблюдали в хилусе зубчатой фасции экспериментальной группы. Кроме этого, у облучённых животных достоверно снижалась длина поля CA3с дорзального гиппокампа, а также несколько уменьшалось количество клеток в нём. Однако эксперименты с применением окрашивания по методу *FJB* показали, что через 2 мес после облучения у животных как в экспериментальной, так и в контрольной группах, не наблюдалось *FJB*-положительного окрашивания в полях CA1, CA3a,b,c и хилусе зубчатой фасции дорзального гиппокампа, что свидетельствует об отсутствии гибели нейронов.

Таким образом, полученные результаты продемонстрировали, что мыши через 2 мес после облучения ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в пике Брэгга в дозе 0.7 Гр проявляют измененную модель поведения, характеризующуюся тревожностью и дефицитом долговременной гиппокамп-зависимой памяти, однако, без нарушений эпизодической памяти. Мы полагаем, что изменение когнитивных показателей у мышей сопровождается нарушением процесса нейрогенеза в гиппокампе, так как на фоне снижения числа нейронов в хилусе зубчатой фасции не наблюдается глиоза и острой гибели нейронов, что требует дальнейших исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗРИТЕЛЬНОМОТОРНОГО ПОВЕДЕНИЯ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У ОБЕЗЬЯН ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ.

Терещенко Л.В., Буйневич А.В., Латанов А.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

liter@mail.ru

В условиях продолжительных космических полетов за пределами магнитосферы Земли радиационные воздействия на организм человека становятся основным лимитирующим фактором, который может привести к нарушениям жизненно важных функций организма, включая функции центральной нервной системы (ЦНС) [1, 3-6].

Наиболее адекватными и продуктивными для исследования таких дисфункций являются модельные эксперименты на обезьянах. Используя специальные экспериментальные парадигмы, у животных можно исследовать глазодвигательные и мануальные реакции, а также произвольные действия, которые имитируют ключевые составляющие операторской деятельности человека. В экспериментах при воздействии на обезьян различных ионизирующих излучений с определенными дозами может быть оценена степень нарушений основных составляющих операторской деятельности космонавта: поиск и восприятие сенсорной информации, зрительно-вызванные и произвольные глазодвигательные реакции, ресурсы и переключение внимания, различные формы манипуляционной деятельности.

Методика

В нашей пилотной работе на одной обезьяне Макака резус были проведены эксперименты по изучению влияния протонного облучения на поведение животного. В ходе работы отработывали проведение двух параллельных экспериментов по методикам, ранее разработанным нами для изучения индуцированного нейрхимического дегенеративного воздействия [7]. В одном эксперименте изучались движения глаз и рук при выполнении обезьяной сложного зрительно-моторного инструментального рефлекса (Эксперимент 1). В другом изучали оперантное поведение обезьяны при решении пространственной задачи по доставанию подкрепления в простом лабиринте (Эксперимент 2).

Эксперимент 1.

Обезьяну предварительно обучали выполнять целенаправленные саккады (быстрые движения глаз) от центрального к периферическим стимулам в пределах широкой двумерной области зрительного поля ($\pm 19,5$ градусов по горизонтали и $\pm 13,0$ градусов по вертикали) и выполнять движения рукой за рычаг на себя в ответ на уменьшение яркости (пригашение) периферического стимула. Подкрепляли движение руки коллатеральной положению периферического стимула. В случае положения периферического стимула на линии симметрии зрительного поля подкрепляли движение как правой, так и левой руки. Такая пространственная схема предъявления периферических стимулов позволяет исследовать выполнение саккад разных амплитуд и направлений в пределах тестируемого зрительного поля. Также варьировали временной интервал между выключением центрального и предъявлением периферического стимула, что позволяет исследовать выполнение зрительно-вызванных саккад в различных состояниях премоторного внимания [2, 7]. Движения глаз регистрировали методом видеоокулографии с частотой 200 Гц и пространственной точностью в пределах 0,2 градуса по обеим координатам. Движения рук регистрировали с частотой 100 Гц и пространственной точностью 0,1 мм амплитуды перемещения рычага.

В ходе эксперимента исследовали выполнение собственно движений глаз и рук (латентные периоды и скорости движений глаз и рук, точность выполнения саккад), зрительно-моторную координацию, в частности асимметрию выполнений саккад в разные половины поля зрения и выполнений движений правой и левой рукой, а также их соотношение для животного, процессы вовлечения и сброса зрительного премоторного внимания.

Эксперимент 2.

В экспериментальной клетке обезьяне предъявляли полый куб с прозрачными стенками. В одной из стенок куба имелось отверстие. Куб мог быть закреплен перед обезьяной с одним из пяти возможных положений отверстия: отверстием вверх, к себе, вправо, влево, от себя по отношению к животному. В центр куба клали пищевое подкрепление. Для решения пространственной задачи обезьяна должна была просунуть руку в куб сквозь отверстие и взять подкрепление. Поведение обезьяны при решении задачи записывали на видеокамеру для определения параметров решения задачи животным (выбор активной руки, время решения задачи, ошибочные попытки взять подкрепление сквозь сплошную стенку и т.д.) при последующем просмотре.

Совокупный анализ регистрируемых параметров позволяет оценить степень успешности когнитивной функции представления пространственных отношений в периперсональном (близком, доступном для манипуляций) пространстве обезьяной.

По завершении обучения и регистрации контрольных показателей экспериментальной работы в обоих экспериментах голову обезьяны подвергли облучению пучком протонов (энергия 170 MeV, сечение пучка 8x8 см, длительность облучения 5 минут) на базе ОИЯИ (г. Дубна). Полученная доза составила 3 Гр. После облучения поведение животного исследовали на протяжении 3-х месяцев в обоих экспериментах.

Результаты

Эксперимент 1.

Поведение обезьяны в зрительно-моторной инструментальной задаче после облучения не претерпело значимых изменений. Доля выполненных правильных реакций ($82,2\% \pm 0,6\%$) и доля инструментальных реакций ($92,6\% \pm 1,6\%$) - показатель, отражающий мотивацию животного, соответствовали значениям нормального состояния до облучения ($83,6\% \pm 0,8\%$ и $93,8\% \pm 1,2\%$ соответственно).

Латентные периоды и максимальные скорости движения рукой за рычаг при выполнении задачи также соответствовали значениям контрольного поведения. Незначительное уменьшение средней длительности латентного периода движения руки с 404 ± 6 мс в контрольный период до 393 ± 5 мс спустя три месяца после облучения мы связываем с упрочением инструментального рефлекса вследствие неизбежного дообучения обезьяны.

Эксперимент 2.

По завершению обучения обезьяны работе в пространственной задаче ключевые параметры решения задачи: среднее время решения задачи - $4,1 \pm 1,2$ с, среднее количество ошибок на одно решение задачи - $2,1 \pm 0,3$ и доля решения задачи с первой попытки - 50%, стабилизируются и не показывают достоверных изменений после облучения.

Выбор активной руки обезьяной при решении пространственной задачи сохраняется и также показывает высокую стабильность как до, так и после проведенного облучения.

Полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии нарушений зрительно-моторного поведения и когнитивной функции представления

пространственных отношений в течение трёх месяцев после воздействия на мозг обезьяны протонным излучением указанных характеристик.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-01027.

1. Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А. К оценке риска биологического действия галактических тяжелых ионов в условиях межпланетного полета // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова – 2013. - Т. 99, № 3. – С. 273-280.

2. Терещенко Л.В., Молчанов С.А., Колесникова О.В., Латанов А.В. Функциональная асимметрия движений рук у обезьян (*Macaca mulatta*) // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова – 2012. - V. 62, № 4. – С. 431-439.

3. Chancellor J.C., Scott G.B.I., Sutton J.P. Space Radiation: The Number One Risk to Astronaut Health beyond Low Earth Orbit // Life : Open Access Journal. – 2014. – V. 4, № 3. – P. 491-510.

4. Cucinotta F., Alp M., Sulzman F. & Wang M. Space radiation risks to the central nervous system // Life Sceinces in Space Research. – 2014. – V. 2. – P. 54–69.

5. Nelson G.A. Space Radiation and Human Exposures, A Primer // Radiation Research. – 2016. – V. 185, № 4. – P. 349-358.

6. Parihar V.K., Allen B.D., Caressi C., Kwok S., Chu E., Tran K.K., Chmielewski N.N., Giedzinski E., Acharya M.M., Britten R.A., Baulch J.E. & Limoli C.L. Cosmic radiation exposure and persistent cognitive dysfunction // Sci. Rep. - 2016. – V. 6. – P. 34774.

7. Tereshchenko L.V., Anisimov V.N., Shul'govsky V.V., Latanov A.V. Early changes in saccadic eye movement in hemiparkinsonian MPTP-treated monkeys // Perception. -2015. – V. 44, №№ 8-9. – P. 1054-1063.

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННОЙ НАГРУЗКИ НА МОЗГ В ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТАХ

Ушаков И. Б., Федоров В. П., Комаревцев В. Н.

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
Москва, Россия fedor.vp@mail.ru

Так как изучение радиационных эффектов на человеке в принципе невозможно (Бехтерева Н.П., 1988), то моделирование радиационной нагрузки на мозг в длительных космических полетах возможно только в экспериментах на животных. При этом можно исключить влияние практически всех сопутствующих факторов и выявить изменения головного мозга в ранние и отдаленные сроки, установить доза-временные зависимости и наиболее критические мишени для ионизирующего излучения, а также использовать методики, неприемлемые для человека с последующей экстраполяцией на него полученных данных (Даренская Н.Г. и др., 2010). Правомочность такого подхода к проблеме доказана еще в пятидесятые годы школой Н.А. Краевского.

Исследование выполнено на головном мозге 700 половозрелых беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес. к началу эксперимента (соответствует 27–28 г. возраста человека), облученных γ -квантами ^{60}Co с энергией 1,2 МэВ однократно и фракционировано в суммарных дозах 10, 20, 50 и 100 сГр с мощностью дозы облучения 50, 100, 250 и 660 сГр/ч (для человека это соответствует дозам облучения от 5 до 50 сГр). Материал забирали в первые часы и сутки (1, 3, 7, 14), 1, 3, 6, 12, 18 и 24 мес. пострadiационного периода. Каждой группе соответствовал адекватный возрастной контроль. Для нейроморфологического исследования взяты нейроны различных отделов головного мозга, имеющих отношение к поведению и работоспособности. Эти свойства организма, в конечном итоге, проявляются через движение и зависят от состояния пирамидной, экстрапирамидной, лимбической и афферентной систем, а также жизненно-важных центров промежуточного и продолговатого мозга. При анализе основное внимание уделялось таким радиационным мишеням как белок и нуклеиновые кислоты. Оценивалась также структурно-функциональная перестройка нейронов по тинкториальным и морфометрическим показателям, состоянию ферментативных систем, нейроглии и микроциркуляторного русла. Алгоритм исследования объектов головного мозга, статистического анализа и математического моделирования подробно приведен нами в монографии «Малые радиационные воздействия и мозг, 2015».

Проведенные исследования на полную продолжительность жизни показали, что возрастная перестройка головного мозга интактных животных заключалась в изменении соотношения нейронов нормо- гипо- и гиперхромного типов, изменении их размеров, размеров цитоплазмы, ядра и ядрышка, в увеличении количества деструктивно измененных клеток к окончанию эксперимента. Прослеживается тенденция к снижению количества нейронов на единице площади, а также снижение в них содержания белка, нуклеиновых кислот, биосинтетических и энергетических процессов. Это необходимо учитывать при анализе нейроморфологических эффектов при малых радиационных воздействиях. Установлено, что структуры головного мозга обладают высокой морфофункциональной чувствительностью к ионизирующему излучению в изученных дозах, но, в целом, достаточной устойчивостью нейронной и нейроглиальной популяции, белка, нуклеиновых кислот, ферментативных систем и микроциркуляторного русла к воздействию внешнего облучения. Выявленные изменения неспецифичны, протекают волнообразно, не имеют линейной дозовой или временной зависимости с прогнозом восстановления до показателей возрастной нормы. При всех дозах и сроках пострadiационного периода преобладали изменения,

отражающие различные варианты функциональной активности нейронов. Такие изменения обратимы и в определенных условиях на их основе могут формироваться различные виды адаптационных или альтеративных изменений. Изменения встречались как в контрольных, так и облученных группах, отличаясь процентным соотношением, гетероморфностью и гетерохронностью. При всех режимах облучения динамика содержания ДНК в ядрах, РНК в ядрышках нейронов связана, как правило, с изменениями морфометрических показателей, а уровень цитоплазматической РНК - с функциональным состоянием нервных клеток. Внешнее гамма-облучение в исследованных малых дозах не приводит к каким-либо значимым изменениям активности основных окислительно-восстановительных ферментов головного мозга, однако в подкорковых структурах дегидрогеназы отличались повышенной лабильностью. В конце пострadiационного периода, как правило, отмечалось повышение активности Г-6-ФДГ. Видимо, существенная роль в обеспечении функции нервной системы после облучения в малых дозах принадлежит мобилизации пентозофосфатного пути превращения углеводов.

Нервные клетки реагируют на действие малых доз ионизирующего излучения не зависящими от доза-временных параметров фазными изменениями размеров и соотношений между цитоплазмой, ядром и ядрышком. Наибольшие изменения отмечались в сенсомоторной коре и мозжечке и были более лабильными при самой малой дозе облучения – 10 сГр. Это подтверждает данные о преобладании при малых дозах эффекта возбуждения над ионизацией. Большей чувствительностью к гамма-облучению отличались структуры нейронов, имеющих отношение к синтезу белка (ядра, ядрышки). Содержание общего белка в нейронах к концу наблюдения снижалось независимо от режима облучения. Однако регрессионный анализ показал, что в снижении количества нейронов на единице площади и содержания в них белка больший вклад у облученных животных, как и у интактных, вносит временной фактор, чем радиационный.

Фазные изменения количества нейроглии при облучении в малых дозах, видимо, обусловлены изменением конформационных свойств белковых молекул глиальных клеток, что влечет за собой изменение сродства с красителем на определенных этапах эксперимента. Возможна также ее пролиферация и распад. Но в целом реакция нейроглии не играет при облучении в малых дозах заметной роли. При малых радиационных воздействиях не выявлено существенных изменений в микроциркуляторном русле головного мозга. Наблюдались только фазные обратимые колебания фермента, регулирующего активный транспорт через капиллярную стенку (ЩФ), и в единичных случаях локальные очаги отека в подкорковых структурах мозга. Значимой зависимости состояния микроциркуляторного русла от режима и мощности дозы радиационного облучения не установлено.

При однократном облучении в дозе 50 сГр с мощностями дозы 50, 100, 250 и 660 сГр основные различия в изменениях касались соотношения между нормо-, гипо- и гиперхромными формами нейронов, т.е. в нарушении баланса между процессами возбуждения и торможения, нейроморфологическими коррелятами которых и являются различные типы нейронов. Так как гипо-, гипер- и нормохромные нейроны составляют биологическую норму нервных клеток, отражающую их различное функциональное состояние, то данные режимы радиационного воздействия не вызывают необратимые повреждения в популяции нейронов. Следует все же отметить, что режим облучения с высокой мощностью дозы вызывал более полиморфные изменения нейроморфологических показателей, чем облучение с меньшей мощностью дозы. Регрессионный анализ подтвердил, что изученные мощности дозы радиационного воздействия при своих минимальных или максимальных значениях практически не

оказывали значимо различного влияния на состояние нейроморфологических показателей. Некоторые отличия отмечались лишь при средних значениях мощностей дозы, но здесь многое зависело от рассматриваемого показателя.

Дисперсионный анализ нейроморфологических эффектов в головном мозге крыс, подвергшихся радиационному воздействию в дозе 50 сГр, не выявил существенных различий между однократным и фракционированным облучением. Из всех сравниваемых типов клеток наиболее значимым является сравнение нейронов с необратимыми (деструктивными) изменениями, а нормохромные нейроны и нейроны с функциональными изменениями (гипо- и гиперхромные) являются вариантами нормы и свидетельствуют об их функциональном состоянии (возбуждение, покой или торможение). Сравнение режимов облучения по количеству деструктивных нейронов показало отсутствие достоверных различий при однократном и фракционированном воздействии. Не установлено и существенных различий морфометрических показателей нейронов, содержания белка и нуклеиновых кислот, а также активности ферментативных систем. Применение методов математического анализа позволило дифференцировать радиационно-индуцированные эффекты от возрастных изменений и сделать отдаленный прогноз возможных радиационно-индуцированных морфологических изменений в зависимости от дозы облучения, мощности дозы и времени пострадиационного периода. Таким образом малые дозы ионизирующего излучения при внешнем воздействии оказывают на нейроморфологические показатели нелинейное стохастическое влияние без значимых органических изменений и в изученном диапазоне доз (10–100 сГр), видимо, сами не могут являться ведущей причиной нарушения психоневрологического статуса экипажей летательных аппаратов. Вместе с тем, в пострадиационном периоде не все показатели соответствовали возрастному контролю, что может все-же предрасполагать к развитию ряда функциональных изменений в нервной системе. В реальных условиях профессиональные факторы полета усиливают радиационные церебральные, что вызывает необходимость снижения допустимой дозы облучения для космонавтов по сравнению со специалистами наземных служб. Полученные данные могут быть экстраполированы как по продолжительности жизни, так и по характеру облучения на человека, что будет полезным в радиобиологической оценке нарушений функций центральной нервной системы у лиц подвергшихся облучению в дозах, не вызывающих детерминированных последствий.

**PERSPECTIVES IN ASTROBIOLOGY:
MICROFOSSILS IN CARBONACEOUS METEORITES**

Richard B. Hoover and Alexei Yu. Rozanov***

*Astrobiology Laboratory, Athens State Univ., Athens, Alabama USA

*Buckingham Centre for Astrobiology, Univ. of Buckingham, Buckingham, UK

**Astrobiology Group, Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

e-mail: RichardBHoover@icloud.com; Aroza@Paleo.Ru

Carbonaceous meteorites are messengers from Space. Studies carried out immediately after the fall of the Alais (1806) and the Orgueil (1864) CI1 carbonaceous meteorites revealed they contained carbon, water, clay minerals and organic matter similar to peat. These early researchers suggested that the organic materials may have been produced by extraterrestrial life forms but this hypothesis was immediately rejected. The detection of organic biomolecules and microfossils of cyanobacteria and acritarchs in carbonaceous meteorites was raised again in the early 1960's but the results were again dismissed as pollen grains or accidental or intentional contamination. The study of carbonaceous meteorites continued but it was primarily confined to the investigation of the mineralogy and petrology of the stones, but the studies also resulted in the detection of complex organic chemicals, nucleobases, protein amino acids (some with *L*-excess) kerogen and the diagenetic breakdown products (e.g. vanadyl porphyrins, pristane, phytane) of chlorophyll and other life-critical biomolecules in the stones. The report of possible microfossils in the Mars Meteorite ALH84001 triggered the emerging field of Astrobiology and renewed interest in the search for evidence of extraterrestrial life. In 1996, independent Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy investigations carried out at PIN/RAS (Rozanov) and the NASA/MSFC revealed that carbonaceous meteorites contain a wide variety of recognizable microfossils of prokaryotic and eukaryotic life forms. It has been shown that the nucleobases and protein amino acids are indigenous and extraterrestrial. However, several unstable protein amino acids and nucleobases (Thymine and Cytosine) and sugars (ribose and de-oxylribose) that are essential to all forms of life are absent. Since it would be impossible to contaminate a meteorite with modern microorganisms without also contaminating it with all 20 protein amino acids, ribose and deoxyribose, all 5 nucleobases, nucleotides, chlorins, ATP and a host of other life-critical biomolecules invalidates the hypothesis that these stones are contaminated by modern terrestrial microorganisms is invalidated. Absence of nitrogen in the fossils detected, and abnormal C/O and C/S ratios prove the microfossils are also indigenous and extraterrestrial. This Lecture will provide a brief overview of the subject and present new images and EDS data for fossils of diatoms and extinct acritarchs and cyanobacteria recently obtained at NASA/MSFC, PIN and the Astrobiology Sector of the JINR Laboratory of Radiation Biology.

KEYWORDS: microfossils, biomolecules, carbonaceous meteorites, contamination, FESEM images, Raman Spectroscopy, C/O and C/S ratio, hystrichospheres, acritarchs, cyanobacteria, diatoms, prasinophyte algae.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ ПОБОЧНЫХ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ РАДИОИОДТЕРАПИИ ПРИ ПОМОЩИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ.

Хвостунов И.К., Крылов В.В., Родичев А.А., Хототова Т.Ю., Шепель Н.Н., Коровчук О.Н., Пятенко В.С., Хвостунова Т.И.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Калужская обл., Россия
igor.khvestunov@gmail.com

Совершенствование индивидуального подхода в случае применения радиоiodтерапии для лечения дифференцированного рака щитовидной железы позволяет не только повысить эффективность лечения, но и снизить вероятность рецидивов заболевания, а также повысить эффективность терапии в случае применения многократных назначений с большой суммарной активностью радиоактивного йода. Несмотря на длительный опыт применения радиоiodтерапии, оценка соотношения ее пользы и негативных последствий требует дальнейшего изучения. Попадая в организм пациента и концентрируясь в опухолевых очагах, радиоактивный йод убивает раковые клетки, но при этом облучает также и здоровые ткани всего организма. Чтобы снизить подобное негативное воздействие, необходима объективная оценка побочной дозы общего внутреннего облучения и совершенствование схемы лечения с учетом индивидуальных особенностей пациентов.

В настоящей работе для оценки побочной дозы общего облучения вследствие радиоiodтерапии применяли метод биологической дозиметрии, основанный на анализе хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови пациента. Для цитогенетического анализа использовали образцы периферической крови, взятые у обследованных лиц из локтевой вены. Образцы крови у всех обследованных лиц брались в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации и нормами медицинской этики после получения информированного согласия. Хромосомные aberrации изучались метафазным методом в клетках первого митоза. Методика заключалась в подготовке препаратов метафазных хромосом, их окрашивании и микроскопическом анализе препаратов. Культивирование клеток проводилось с использованием фитогемаггутина (PHA M-form, Gibco). Для изучения стабильных хромосомных aberrаций применяли метод флуоресцентной *in situ* гибридизации с использованием в качестве зондов биотинилированных ДНК-проб, специфичных к отдельным хромосомам человека 2, 4 и 12. Для контрастного окрашивания оставшихся хромосом применяли DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole). Приготовление препаратов и фиксация выполняли по стандартной методике в соответствии с международными рекомендациями МАГАТЭ. Оценка дозы проводилась с использованием лабораторной калибровочной дозовой зависимости с учетом эффекта мощности дозы, оцененного в рамках модели неполной репарации.

В ходе проведенных работ были обследованы 37 больных дифференцированным раком щитовидной железы, получавших радиоiodтерапию в клинике МРНЦ им А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия). Среди обследованных лиц - 16 пациентов получали радиоiodтерапию впервые с разовым назначением в пределах 2 - 4 Гбк и 21 - находились в процессе многократного лечения, от 1 до 17 курсов, с суммарной полученной активностью от 1.48 до 42.8 Гбк. В результате, в группе первичных пациентов средняя частота радиационных маркеров (дигетриков+центрических колец) составила 1.71, а у пациентов с повторными назначениями средний прирост

частоты маркеров после радиойодтерапии равнялся 2.08 на 100 клеток. В группе первичных пациентов средняя доза общего облучения составила 0.62 Гр (95% CI: 0.44-0.77 Гр), а при повторных назначениях – 0.67 Гр (95% CI: 0.03-1.00 Гр). Оценка дозового коэффициента по результатам обследования всех пациентов составила (0.238 ± 0.020) мГр/МБк. В группе пациентов с повторными назначениями средний прирост частоты стабильных маркеров (полных и неполных транслокаций) после радиойодтерапии равнялся 3.98/100 геном-эквивалентных клеток. Соответственно, средняя доза составила 1.21 Гр (95% CI: 0-1.72 Гр).

Выполненные исследования показали, что цитогенетическая биодозиметрия позволяет учесть индивидуальные особенности пациента при оценке побочного воздействия радиоактивного йода. Прирост частоты аберраций в процессе радиойодтерапии характеризует индивидуальную радиационную чувствительность и позволяет оценить поглощенную дозу общего облучения. Анализ частоты аберраций в лимфоцитах крови до начала терапии позволяет оценить т.н. «цитогенетический статус» пациента, который является показателем индивидуальной радиационной чувствительности, поскольку является следствием баланса индукции повреждений и репарации хромосом. Кроме того, он содержит информацию о полученной ранее радиационной нагрузке, на основании которой можно оценить суммарную накопленную дозу за время прохождения радиойодтерапии.

Биологическая дозиметрия на основе анализа аберраций в лимфоцитах крови дает возможность индивидуализировать схему применения радиойодтерапии. Цитогенетические показатели пациента после курса радиойодтерапии отражают индивидуальную реакцию организма на побочное внутреннее облучение, что позволяет уточнить прогноз и оценить возможные риски данного вида терапии. Используемая в ходе выполнения данного исследования методика расчета дозы по частоте аберраций учитывает эффект мощности дозы путем его оценки по модели неполной репарации. Такой подход позволяет устранить систематическое занижение дозы общего облучения на величину порядка 40%. Биодозиметрическая оценка дозы общего облучения после окончания курса радиойодтерапии позволяет установить, не был ли превышен порог миелотоксичности (2 Гр). Превышение порога можно ожидать, если при первичном назначении частота дицентриков в лимфоцитах крови находится в диапазоне (10 – 15) диц./100 клеток или выше. Существенно повышенный по сравнению с контролем уровень аберраций может быть предупредительным сигналом о необходимости внести изменения в схему лечения для предотвращения негативных гематологических осложнений.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕТИНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ.

¹Цонев П., ¹Тановска М., ²Виноградова Ю., ¹Владими́рова - Михалева Л., ²Красавин Е. А., ³Островский М.А.

¹Софийский университет „Св. Климент Охридски”, Физический факультет, София, Болгария

²Лаборатория Радиационной биологии, ОИЯИ, Дубна, Россия

³Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

e- mail: vladimirova@phys.uni-sofia.bg

Цель этой работы исследование функциональной активности сетчатки глаза мышей в отдаленном периоде после воздействия видимого света и ионизирующего излучения в дозе 5 Гр. Исследования проводились с помощью метода электроретинографии.

Было получено, что время восстановления физиологической активности сетчатки глаза мышей зависит от длительности стимуляции ее видимым светом. В этом случае восстановление сетчатки наблюдалось через 1 час после воздействия видимого света. Данное восстановление не носит постоянный характер.

Исследование функциональной активности сетчатки через 8-9 месяцев после воздействия ионизирующего излучения показало, что зрелая сетчатка мышей обладает высокой радиоустойчивостью. Известно, что дозы, вызывающие детектируемые морфологические и функциональные изменения сетчатки глаза, превышают 14 Гр. Ранее в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ было показано, что воздействие ускоренных протонов и γ -квантов в дозе 14 Гр. не приводит к снижению a - и b - волн электроретинограммы сетчатки глаза мышей [1-3]. Данная часть экспериментов направлена на определение изменений в функциональной активности сетчатки у мышей в отдаленный период времени после облучения.

Исследование динамики изменения физиологической активности сетчатки глаза мышей через 8-9 месяцев после тотального облучения головы мышей протонами и γ -квантами в дозе 5 Гр показало, что облучение вызывает спрямление амплитуд a - и b - волн электроретинограммы на данном сроке наблюдения.

Значения амплитуд электроретинограммы сетчатки глаза мышей после облучения не восстанавливаются до контрольных значений.

[1]. Тронов В.А., Виноградова Ю.В., Логинова М.Ю., Поплинская В.А., Островский М.А. Механизмы радиорезистентности терминально дифференцированных клеток зрелой сетчатки глаза. Цитология. 2012. 54 (3). С. 261-269.

[2] Тронов В.А., Виноградова Ю.В., Ляхова К.Н., Поплинская В.А., Островский М.А. Повреждение и функциональное восстановление сетчатки у мышей после воздействия генотоксических агентов. Радиационная биология. Радиоэкология 2014. 54(4). С. 385-392.

[3] Виноградова Ю.В. "Исследование повреждения и процессов восстановления сетчатки глаза мышей после облучения ускоренными протонами и действия метилнитрозомочевины". Автореферат. 2015. Москва. С. 3-21.

ОСОБЕННОСТИ ИНДУКЦИИ И РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В КЛЕТКАХ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ γ -КВАНТОВ ^{60}Co *IN VIVO И IN VITRO.*

Чаусов В.Н.¹, Борейко А.В.^{1,2}, Кожина Р.А.^{1,2}, Кузьмина Е.А.^{1,2}

¹Объединенный институт ядерных исследований,

²Государственный университет «Дубна»

При разработке планов реализации межпланетных пилотируемых полетов особую важность приобретает проблема радиационной безопасности экипажей. Критической мишенью в условиях межпланетных полетов будут являться структуры ЦНС, повреждение которых может привести к модификации высших интегративных функций мозга и обусловить нарушения операторской деятельности космонавтов. Наиболее чувствительной к облучению областью ЦНС, в связи с сохранившейся в ней способностью к нейрогенезу, является гиппокамп, играющий ключевую роль в формировании «краткосрочной» и «долговременной» памяти, а также в интеграции получаемой мозгом информации, и в распределении ее в высших отделах мозга. Особый интерес представляет изучение механизмов формирования и репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК, как наиболее серьезных повреждений генома, нарушающих функциональную целостность гиппокампа и связанных с ним структур. Важную роль при этом могут играть возрастные изменения в гиппокампе, обусловленные уменьшением количества пролифилирующих прогениторных клеток.

С использованием метода ДНК-комет изучена дозовая зависимость формирования ДР ДНК в клетках гиппокампа при действии γ -квантов ^{60}Co *in vivo* и *in vitro*. Показано, что при облучении *in vitro* количество формирующихся ДР ДНК примерно на 15% больше чем при облучении *in vivo*. Выявлены возрастные различия в количестве формируемых γ -квантами ДР ДНК.

Изучена кинетика репарации ДР ДНК в клетках гиппокампа при облучения γ -квантами *in vivo* и *in vitro*. Показано, что кинетика репарации при облучении *in vivo* имеет сложный характер: количество ДР ДНК увеличивается с момента облучения до максимума вплоть до 4 часов пострadiационного периода, после чего происходит уменьшение количества ДР ДНК, и к 24 ч репарация практически полностью завершается. Полученные результаты существенно отличаются от кинетики репарации ДР ДНК *in vitro*, которая характеризуется экспоненциальным уменьшением количества повреждений. Показано, что возраст животных оказывает существенное влияние на кинетику репарации ДР ДНК, и наиболее эффективно репарация протекает у молодых животных.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ 2-CYS ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ.

Шарапов М.Г.¹, Пеньков Н.В.¹, Новоселов В.И.¹, Брусков В.И.², Гудков С.В.^{3,4}

¹Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия.

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия.

³Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, Россия.

⁴Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

sharapov.mg@yandex.ru

Пероксиредоксины (Prx) – эволюционно древнее семейство пероксидаз, которые играют важную роль в поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза клетки. Эти ферменты обладают широкой субстратной специфичностью и нейтрализуют гидропероксиды как органической, так и неорганической природы. По числу остатков цистеина и механизму катализа, Prx разделены на типичные 2-Cys (Prx1-Prx4), атипичные 2-Cys (Prx5) и 1-Cys пероксиредоксины (Prx6). Функция Prx1-6 в клетке весьма разнообразна и не ограничена лишь пероксидазной активностью. Благодаря структурно-функциональным особенностям Prx участвуют в межклеточных и внутриклеточных сигнальных путях, а также, благодаря шаперонной активности препятствуют денатурации белков в условиях окислительного стресса. Ранее нами был показан радиозащитный эффект 1-Cys Prx (Prx6) на модели тотального облучения мышей сублетальными и летальными дозами рентгеновского излучения [Шарапов М.Г. и др., ДАН, 2016; Sharapov M.G. et al., Free Radical Research, 2017]. Логическим продолжением наших исследований явились испытания радиозащитных свойств 2-Cys Prx. Для этого были получены рекомбинантные белки 2-Cys Prx, а именно Prx1 и Prx2, которые в условиях *in vitro* обладают наибольшей пероксидазной активностью, а также наибольшей стабильностью. Кроме того, Prx1 и Prx2 в отличие от других пероксиредоксинов сохраняют не менее 90% своей ферментативной активности в более широком диапазоне pH и температур. Показано, что Prx3-6 достаточно близки по термостабильности, 50% активности ферменты сохраняют после 30 мин прогревания при температуре 50-53°C, в то время как Prx1 и Prx2 теряют 50% активности только при нагревании до 64°C. Мы предполагаем, что более высокая термостабильность Prx1 и Prx2 связана с их шаперонной активностью, которая, как известно, препятствует термической агрегации. Для проверки потенциальной радиопротекторной активности Prx1 и Prx2 проведено испытание активности *in vitro* по нейтрализации долгоживущих радикалов белков (ДЖРБ), которые получали с помощью облучения рентгеновскими лучами (7-10 Гр) раствора бычьего сывороточного альбумина. По эффективности нейтрализации ДЖРБ Prx1 и Prx2 оказались наиболее эффективными среди семейства пероксиредоксинов.

Исследование радиозащитных свойств Prx1 и Prx2 в условиях *in vivo* на животных также показало их высокую эффективность. Введение Prx1 и Prx2 за 15 мин до воздействия рентгеновского излучения (7 Гр) существенно увеличило выживаемость мышей, 65-70% мышей остались живыми к 30 дню эксперимента. Фактор изменения дозы (ФИД) для Prx1 ~ 1,3 и для Prx2 ~ 1,25.

Проведено исследование влияния экзогенных Prx1 и Prx2 на изменение гематологических показателей у животных подвергнутых воздействию ионизирующей радиации (7 Гр). В группах животных, которым вводили физиологический раствор до облучения в дозе 7 Гр, количество лейкоцитов и гранулоцитов к 6-му дню эксперимента уменьшилось более чем на ~95% и продолжало уменьшаться вплоть до их смерти (примерно 13-е сутки после облучения). Количество тромбоцитов к 11-му

дно снизилось практически на 100% относительно их содержания в периферической крови контрольных интактных мышей. В группе животных, которым вводили Ptx1 до облучения в дозе 7 Гр, количество лейкоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов к 7-му дню эксперимента уменьшилось на 85%, 80% и 60% соответственно, однако начиная с 14 дня после облучения, количество вышеуказанных клеток крови стало увеличиваться, и к 30-му дню их уровень составлял ~ 85% от нормального уровня. Аналогичные результаты были получены для Ptx2, но его эффективность по сравнению с Ptx1 несколько ниже (на ~15%).

Проведена оценка защиты гемопоэтической системы от действия ионизирующего излучения в дозе 1,5 Гр при внутривенном введении Ptx1 и Ptx2. При облучении мышей 1,5 Гр, процент полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге увеличился примерно в 16 раз от 0,26% (0 Гр) до 4,24% (1,5 Гр). При введении животным до облучения Ptx1 в концентрации 20 мкг/г процент ПХЭ с МЯ уменьшается более чем на 57% (с 4,24% до 1,91%), а при введении Ptx2 наблюдается снижение уровня ПХЭ с МЯ на 38% (с 4,24% до 2,79%).

Мы предполагаем, что радиозащитный эффект 2-Cys пероксиредоксинов, Ptx1 и Ptx2 в частности, состоит из нескольких составляющих: 1) высокая пероксидазная активность, обеспечивающая нейтрализацию широкого спектра перекисных субстратов, 2) сигнально-регуляторная функция, которая в стрессовых условиях способствует запуску восстановительных процессов клетки, 3) шаперонная активность 2-Cys Ptx, проявляющаяся в условиях окислительного стресса, препятствует денатурации важнейших белков клетки и межклеточного пространства, способствуя более быстрому восстановлению пораженных тканей. Таким образом, 2-Cys пероксиредоксины могут рассматриваться как потенциально перспективные радиозащитные и профилактические средства для устранения и уменьшения рисков повреждающего воздействия ионизирующего излучения на организм млекопитающих

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-04021-а, 17-44-500476-р_а.

ПРИМЕНЕНИЕ ГИПОФРАКЦИОНИРОВАННОГО РЕЖИМА ОБЛУЧЕНИЯ ПУЧКОМ ПРОТОНОВ СОЛИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ.

*Балакин В.Е. *, Шемяков А.Е.*, Розанова О.М.***, Смирнова Е.Н.***, Заичкина С.И.***, Романченко С.П.***, Сорокина С.С.***, Стрельникова Н.С.**

*Физико-технический центр ФГБУН Физический институт им. П.Н.Лебедева РАН, Протвино

**ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино
alshemyakov@yandex.ru

Протонная терапия (ПТ) опухолей в настоящее время активно развивается во многих странах мира и рассматривается в качестве альтернативы стандартной лучевой терапии с использованием фотонов. Ограниченность использования ПТ связана, в основном, с высокой стоимостью ускорителей, а также с крайне ограниченным количеством экспериментальных исследований по действию протонов на организмы, и, как следствие, недостатком знания фундаментальных основ специфики действия ускоренных частиц на критические структуры и процессы в нормальной и злокачественной клетках. Целью нашей работы являлось изучение динамики роста солидной формы асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и отдаленных последствий у мышей-опухоленосителей, подвергнутых гипофракционированному облучению пучком протонов, в зависимости от объема облучаемой ткани и времени между фракциями.

Эксперименты проводили на самцах мышей колонии SHK весом 24–28 г. Для индукции солидной формы АКЭ мышам вводили в суспензии 2 млн клеток внутримышечно в бедро лапы. На 5-й день после инокуляции животных облучали на отечественном терапевтическом комплексе протонной терапии «Прометеус» (ФТЦ ФИАН, Протвино Московской обл.) тонким пучком протонов с двух встречных направлений методом сканирования по заданному объему. Мышей облучали двумя фракциями по 30 Гр с интервалами между ними от 4 до 24 ч. Для определения объема облучаемой мишени получали томограмму мыши в водном фантоме и с помощью специально разработанной планирующей системы задавали определяемый объем опухоли GTV, равный среднему размеру 0.47 см^3 , или планируемый объем мишени PTV, равный 1.5 см^3 . После облучения динамику роста АКЭ измеряли по объему опухоли еженедельно в течение месяца и регистрировали показатели, характеризующие отдаленные лучевые последствия: дату появления вторичных опухолей, число мышей с рецидивами АКЭ, среднюю продолжительность жизни (СПЖ) мышей с опухолями и без них.

При анализе динамики роста АКЭ в течение месяца была выявлена более высокая эффективность облучения у мышей GTV-объема опухоли по сравнению с PTV-объемом мишени тонким сканирующим пучком протонов двумя фракциями по 30 Гр; при этом временные интервалы между фракциями не влияли на контроль роста опухоли. Поскольку кривые роста опухолей не отражают количество животных, у которых исчезли опухолевые узлы после облучения, сравнили количество мышей без опухолей в разные сроки после облучения. Оказалось, что облучение GTV-объема опухоли по сравнению с PTV было почти в 2 раза более эффективным, начиная уже с 21 суток после облучения как однократно, так и 2 фракциями. При сравнении фракционированного с однократным облучением в дозе 60 Гр этот показатель к 35 суткам достоверно лучше в группе, облученной 2 фракциями GTV-объема. При наблюдении за отдаленными лучевыми последствиями у мышей с полной регрессией опухолевых узлов через 1 месяц после ПТ в группе при облучении GTV — 81% мышей было без опухолей, а при облучении PTV — 45%. Не зависимо от условий облучения

появление рецидивов АКЭ в том же месте у мышей наблюдалось в течение месяца после полного исчезновения первичной опухоли. При сравнении частоты рецидивов при облучении GTV- и PTV-объемов этот показатель также не отличался. При анализе динамики гибели мышей после ПТ оказалось, что в группе, облученной GTV, максимальная продолжительность жизни мышей без рецидивов увеличивалась на 5 мес, а с рецидивами - на 3 мес. СПЖ мышей с рецидивами АКЭ в группе GTV-объема также была выше, чем в группе PTV-объема, и составляла 96 или 58 суток, а для PTV-объема – 77 или 31 суток с момента облучения или после появления рецидива, соответственно ($p \leq 0.01$). В результате проведенных экспериментов было показано, что модель солидной карциномы Эрлиха на мышах может быть использована для исследования контроля роста опухоли при различных режимах гипофракционированного облучения протонами и наблюдения за рецидивами опухоли и других отдаленных последствий радиотерапии.

Полученные результаты продемонстрировали более высокую противоопухолевую эффективность и значительное увеличение СПЖ после гипофракционированного облучения тонким сканирующим пучком протонов в суммарной дозе 60 Гр при захвате GTV-объема по сравнению с PTV-объема мишени. Предложенные система позиционирования и трехмерного планирования облучения мышей, схемы гипофракционированного облучения могут быть использованы для дальнейшего развития ПТ.

РОЛЬ ИСХОДНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ

Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

Определяющая роль мембран как координатора регуляции процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при действии ионизирующих излучений в малых дозах обусловлена обратной зависимостью интенсивности ПОЛ от дозы излучения и его мощности, что многократно показано в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Наличие обширных территорий, фауна и население которых подвергаются хроническому воздействию ионизирующих излучений с переменной мощностью, вызывает необходимость изучения механизма формирования последствий таких воздействий на организм. Ранее была выявлена высокая чувствительность параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ к действию радиации в малых дозах с переменной мощностью как в тканях мышевидных грызунов, отловленных на загрязненных радионуклидами территориях, так и в лабораторных исследованиях (А.Г. Кудяшева и др., 1997, 2004; Л.Н. Шишкина и др., 2006, 2011; М.А. Климович и др., 2010, 2012; L.N. Shishkina et al., 2012). Однако важную роль в формировании последствий радиационного воздействия особенно в малых дозах играет исходное состояние параметров системы регуляции ПОЛ, существенно зависящее от таких факторов, как возраст и вид животных, сезон, характер питания (Е.Б. Бурлакова и др., 1975; Л.Н. Шишкина, Е.Б. Бурлакова, 2005; М.В. Козлов и др., 2008). Необходимо отметить также, что состав и антиокислительная активность липидов оказывают влияние как на соотношение поражения ДНК и мембраны, так и репарацию мембран после воздействия радиации в малых дозах (Е.Б. Бурлакова и др., 1996; Л.Н. Шишкина, М.А. Смотраева, 2000).

Целью данной работы являлось изучить влияние величины исходных параметров ПОЛ на формирование последствий воздействия рентгеновского излучения (РИ) в дозах менее 1,5 мГр переменной мощности на регуляцию окислительных процессов в головном мозге мышей.

Объектами исследования являлись липиды, выделенные из головного мозга (ГМ) интактных и облученных беспородных мышей (самки, возраст 18 недель). Однократное облучение мышей проводили на СВЧ электронно-циклотронном резонансном ускорителе, способном генерировать РИ в малых дозах переменной мощности. Устройство разработано сотрудниками Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН под руководством зав. лабораторией, к. физ.-мат.н. К.Ф. Сергеевича и подробно описано в работе (М.А. Климович и др., 2010). Показатели системы регуляции ПОЛ модифицировали проведением экспериментов в разные сезоны: опыт №1 в сентябре-октябре и опыт №2 в мае-июне.

Забой мышей декапитацией осуществляли спустя 37 суток в опыте №1 и 38 суток в опыте №2 после однократного воздействия РИ. Одновременно с облученными группами мышей забивали и группы возрастного контроля из той же партии животных. ГМ сразу после извлечения помещали в бюксы, охлаждаемые льдом. Интенсивность ПОЛ в гомогенате ГМ оценивали по содержанию продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП). Содержание белка определяли микробиуретовым методом. Количество пероксидов в липидах измеряли методом йодометрического титрования. Антипероксидную активность (АПА) липидов, т.е. способность липидов разлагать пероксиды, оценивали по разности концентраций пероксидов в окисленном метилолеате и растворе в нем липидов, отнесенной к 1 г

липидов (В.А. Меньшов и др., 1994). Содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиснов (КД) анализировали с помощью УФ-спектроскопии (Климович и др., 2010). Качественный и количественный состав фосфолипидов (ФЛ) определяли методом ТСХ. Содержание стерина анализировали спектрофотометрически (W.M. Sperry, M. Webb, 1950). Общее количество животных в экспериментах 70 особей. Все показатели измеряли для каждой мыши индивидуально.

Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, рассчитывая параметрический коэффициент корреляции Пирсона и подтверждая достоверность анализа ранговым методом Спирмена, а также с помощью пакета программ KINS (Э.Ф. Брин, С.О. Травин, 1991) и специально разработанного программного обеспечения для многофакторного анализа экспериментальных данных (М.В. Козлов и др., 2012).

Выявлены существенные различия в количественном соотношении фракций ФЛ, интенсивности ПОЛ и физико-химических характеристик липидов ГМ в группах возрастного контроля в зависимости от сезона проведения эксперимента. Так, содержание ТБК-АП в 1,9 раза, отношение фосфатидилхолин/фосфатидилэтанолламин (ФХ/ФЭ) в 1,6 раза, мольное отношение [стерин]/[ФЛ] в 3,6 раза в липидах ГМ мышей выше в октябре, а доля ФЛ в составе общих липидов (%ФЛ) в 1,8 раза и способность липидов к окислению, т.е. соотношению сумм более легко- и более трудноокисляемых фракций ФЛ (Σ ЛЮФЛ/ Σ ТОФЛ), на 20% выше в июне. Кроме того, при проведении эксперимента в осенний период выявлена гетерогенность физико-химических свойств липидов ГМ в группах возрастного контроля и облученных мышей. В одной группе, наряду с особями, липиды ГМ которых содержали пероксиды, выявлены особи, липиды ГМ которых обладали АПА. При анализе показателей в опыте №2 в группе возрастного контроля и спустя 38 суток после воздействия РИ в диапазоне доз 0,976 – 1,136 МГр липиды ГМ мышей обладали только способностью разлагать пероксиды. Ранее было показано, что масштаб и направленность взаимосвязей между различными параметрами системы регуляции ПОЛ в печени зависят от физико-химических свойств липидов ткани (Л.Н. Шишкина и др., 2014). Это позволяет предположить влияние характеристик липидов на регуляцию процессов ПОЛ в ГМ мышей при воздействии РИ в малых дозах переменной мощности.

Действительно, в осеннем эксперименте в группе облученных мышей, липиды ГМ которых содержали пероксиды ($n = 6$), после воздействия РИ в дозе 0,45 мГр выявлены прямые корреляционные связи между Σ ЛЮФЛ/ Σ ТОФЛ и содержанием ТБК-АП в гомогенате мозга ($R = 0,885$, $p < 0,05$), а также между долей фосфатидной кислоты (ФК) и сфингомиелина (СМ) в ФЛ ГМ ($R = 0,885$, $p < 0,05$). Однако, если липиды ГМ в этой же группе мышей обладали АПА ($n = 4$), то обнаружены прямые корреляционные связи между количеством КД и %ФЛ в составе общих липидов ($R = 0,939$, $p < 0,1$) и относительным содержанием СМ и фосфатидилсерина в ФЛ ГМ ($R = 0,989$, $p < 0,1$). После воздействия РИ в суммарной дозе 0,55 мГр в группе мышей, липиды ГМ содержали пероксиды ($n = 5$), выявлены обратная корреляция между способностью липидов к окислению (Σ ЛЮФЛ/ Σ ТОФЛ) и долей кардиолипина в ФЛ ($R = -0,986$, $p < 0,05$) и прямая с относительным содержанием ФК в ФЛ ($R = 0,995$, $p < 0,01$). Однако при наличии у липидов ГМ мышей этой же группы антипероксидных свойств ($n = 5$) среди наиболее значимых можно отметить обратные взаимосвязи между мольным соотношением [стерин]/[ФЛ] и массой мыши ($R = -0,975$, $p < 0,05$) и долей ФК и количеством ТБК-АП ($R = -0,993$, $p < 0,1$), в также прямую корреляцию между долей кардиолипина в ФЛ и АПА липидов ГМ ($R = 0,999$, $p < 0,05$). Спустя 37 суток после воздействия РИ в суммарной дозе 0,85 мГр липиды ГМ девяти особей из десяти содержали пероксиды, содержание которых взаимосвязано прямыми корреляционными

связями с долей ФК в составе ФЛ ($R = 0,945$, $p < 0,01$) и соотношением $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ ($R = 0,892$, $p < 0,01$).

Как показано в работе (Л.Н. Шишкина и др., 2014), наиболее устойчивой и практически независимой от физико-химических свойств липидов в печени и ГМ мышей является взаимосвязь между количеством КД и ДК в липидах, а масштаб взаимосвязи в липидах ГМ обусловлен возрастом мышей и сезоном проведения экспериментов. Действительно, коэффициент прямой корреляции в группах возрастного контроля превышает значение 0,99 в обоих опытах, однако коэффициент линейной регрессии данной корреляционной связи в 1,8 раза выше в июне по сравнению с аналогичным значением для липидов ГМ мышей в осеннем эксперименте. Спустя 37 - 38 суток после воздействия РИ в дозах менее 1,5 мГр выявлены как изменение масштаба взаимосвязей между содержанием КД и ДК в липидах ГМ облученных мышей, так и отсутствие линейной зависимости от дозы РИ во всех случаях. Так, в осеннем эксперименте после воздействия РИ в дозе 0,45 мГр коэффициент линейной регрессии этой взаимосвязи выше, в липидах мышей после облучения в дозе 0,55 мГр несколько ниже, чем в липидах ГМ в группе возрастного контроля, а увеличение дозы РИ вызывает дискоординацию взаимосвязи между показателями. Об этом свидетельствует отсутствие корреляции между содержанием КД и ДК в липидах ГМ в осеннем эксперименте спустя 37 суток после облучения мышей в суммарной дозе 0,85 мГр. При проведении экспериментов в весенне-летний сезон спустя 38 суток после воздействия РИ в дозах 0,976 мГр и 0,992 мГр величины коэффициентов линейной регрессии в группах облученных мышей практически одинаковы и имеют только тенденцию уменьшения по сравнению с аналогичной величиной в группе возрастного контроля. Увеличение дозы РИ до 1,136 мГр приводит к тому, что спустя 38 суток после облучения рост величины ДК опережает увеличение содержания КД в липидах ГМ мышей на 27%.

Таким образом, совокупность экспериментальных данных свидетельствует о сложном и неоднозначном характере изменения регуляции процессов ПОЛ в ГМ мышей после воздействия РИ в дозах менее 1,5 мГр переменной мощности, что обусловлено, во-первых, существенными различиями в величинах исходных показателей физико-химической системы регуляции ПОЛ в зависимости от сезона проведения экспериментов, и, во-вторых, неодинаковой чувствительностью параметров этой системы регуляции к воздействию РИ в малых дозах с переменной мощностью.

Авторы выражают признательность сотрудникам Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН зав. лабораторией, к.физ.-мат.н. К.Ф. Сергееву, с.н.с., к.физ.-мат.н. Д.М. Карфидову и н.с. Н.А. Лукиной за помощь в проведении экспериментов по облучению животных.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (2012 – 2014 гг.).

**О ВОЗМОЖНОСТИ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОГО ХАРАКТЕРА
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ
ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И МОДЕЛИРУЕМОЙ ГИПОГРАВИТАЦИИ
ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ЭТИХ ФАКТОРОВ.**

*Штемберг А.С., Кохан В.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Шуртакова А.К., Базян А.С.,
Кудрин В.С.*

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия
andrei_shtemberg@mail.ru

Применительно к задачам космической биологии и медицины вопросы воздействия факторов космического полета (ФКП) на функциональные реакции центральной нервной системы (ЦНС) до сих пор остаются недостаточно изученными. Вместе с тем, эти вопросы приобретают особую актуальность в последнее время в связи с планированием и подготовкой дальних длительных космических экспедиций (в частности, Марсианской миссии). В дальних космических экспедициях, связанных с выходом за пределы магнитосферы Земли, одним из основных лимитирующих возможность осуществления таких экспедиций факторов становится радиационный, который, в сочетании с другими ФКП, может привести к нарушениям функций ЦНС, лежащих в основе операторской деятельности космонавтов. Это, в свою очередь, представляет реальную опасность для выполнения ими полетного задания и самой их жизни. При этом, в отличие от отдаленных последствий воздействия радиации (канцерогенез, катарактогенез, цитогенетические нарушения, сокращение продолжительности жизни и др.), эргономический риск, обусловленный возможными нарушениями операторской деятельности космонавтов, связан с угрозой их жизни непосредственно в процессе полета. Основную опасность представляют галактические космические лучи (ГКЛ), состоящие из протонов и тяжелых ионов чрезвычайно высоких энергий (до 10^{20} МэВ). Защититься от таких высокоэнергетических излучений в условиях космического корабля чрезвычайно сложно.

В настоящее время получено достаточно экспериментальных данных, свидетельствующих о существенных нарушениях функций ЦНС на всех уровнях ее организации, вызываемых воздействием тяжелых ионов в дозах, сопоставимых с потенциально возможными в ходе Марсианской миссии. Так, при облучении ионами ^{56}Fe в дозах 0,1-2 Гр с энергией порядка 1 ГэВ/нуклон зарегистрировано снижение калий-зависимого освобождения дофамина в стриатуме, заметное снижение активности глутаматергической системы в гиппокампе, снижение двигательной активности и мышечной силы, пространственной ориентации и памяти, нарушение когнитивных функций мозга, а также усугубление наблюдающихся нарушений с возрастом (Rabin et al, 2003, 2005; Britten et al, 2012; Machida et al, 2010).

Более 80% ГКЛ составляют высокоэнергетические протоны. В то же время данных о воздействии протонов на функции ЦНС сравнительно немного. В частности, показано, что при облучении протонами с энергией 250 МэВ в дозах 3 и 4 Гр наблюдается преходящее угнетение двигательной и исследовательской активности крыс в «открытом поле», снижение способности удержания на ротароде при облучении в дозе 4 Гр (Pesaute et al, 2002).

Чрезвычайно важной, и, в то же время, наименее изученной проблемой являются нейробиологические эффекты комбинированного действия ионизирующих излучений и нерадиационных ФКП, в частности, важнейшего из них – микрогравитации. Нами впервые была проведена серия экспериментов по исследованию нейробиологических эффектов синхронного комбинированного действия длительного гамма-излучения, моделируемой гипогравитации и высокоэнергетических протонов. В качестве модели

гипоавитации использовали общепринятую для этой цели в исследованиях на грызунах методику антиорто статического вывешивания (АнОВ). Стеллаж с вывешенными крысами находился в облучательской в течение 1 мес., 2 и 1 недель (в разных экспериментах). В течение этого времени проводили соответственно 6, 1 и 1 суточных сеансов гамма-облучения в суммарной дозе 3 Гр. После снятия животных с вывешивания проводили однократный сеанс облучения головы протонами с энергией 170 МэВ в расширенном пике Брэгга в дозе 1 Гр.

После экспериментальных воздействий исследовали функциональные реакции ЦНС животных на всех уровнях ее организации - от молекулярного до интегративного. Изучали уровень экспрессии серотониновых и дофаминовых рецепторов, ферментов и транспортеров, обмен моноаминов в ключевых структурах мозга, двигательную, ориентировочно-исследовательскую активность, тревожность, эмоциональность, долговременную память, пространственную память и ориентацию, когнитивные функции животных.

Исследования выявили зависимость нейробиологических эффектов от срока АнОВ. Так, при месячном АнОВ наблюдали достаточно быстрое восстановление основных компонентов двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у животных экспериментальных групп. При этом воздействие АнОВ преваляло в формировании эмоционально-мотивационной основы поведения в «открытом поле». При комбинированном воздействии исследуемые факторы оказывали значительно более выраженное действие на эмоционально-мотивационные процессы, нежели на когнитивные функции. Воздействие АнОВ и комбинированное воздействие АнОВ + облучение нарушало долговременную память; только облучение не давало такого эффекта. В целом незначительное влияние исследованных факторов на когнитивную деятельность животных хорошо соотносилось с относительно слабо выраженными изменениями концентрации моноаминов в структурах мозга, отвечающих за когнитивное и эмоционально-мотивационное поведение; в то же время при комбинированном воздействии АнОВ + γ -облучение + протоны, наряду с гиппокампом и префронтальной корой, были выявлены изменения в прилежащем ядре, являющемся основной интегрирующей структурой мезолимбической ДА системы, которая индуцирует мотивированное поведение. Наряду с изменениями в содержании метаболитов, было обнаружено изменение в содержании mRNA рецепторов серотонина: снижение экспрессии 5-HT_{2c} в префронтальной коре и увеличение экспрессии 5-HT_{2a} в стриатуме. Одновременно с этим происходил рост уровня mRNA серотонинового транспортера в префронтальной коре.

По результатам 14-суточного АнОВ при исследовании пространственной ориентации, обучения и воспроизведения пространственной памяти крыс в водном лабиринте Морриса достоверных различий не было получено; отмечена тенденция к некоторому замедлению обучения у облученных крыс. Наиболее выраженное угнетение двигательной активности происходило у крыс, подвергнутых АнОВ. Исследование в приподнятом крестообразном лабиринте выявило снижение тревожности у крыс всех экспериментальных групп, что подтверждалось данными поведения в «открытом поле». Исследование метаболизма моноаминов показало, что и в данном случае наиболее чувствительными структурами оказались префронтальная кора и прилежащее ядро.

При 7-суточном АнОВ также наблюдались незначительные нарушения активных компонентов поведения, обусловленные воздействием АнОВ. В то же время происходило повышение пассивно-оборонительных компонентов поведения и тревожности у крыс экспериментальных групп в тестах «открытого поля» и приподнятого крестообразного лабиринта. Зарегистрирована также тенденция к

нарушению долговременной памяти при комбинированном воздействии. Экспериментальные факторы практически не повлияли на успешность обучения крыс в водном тесте Морриса. Наиболее значительные изменения в обмене моноаминов в группе АНОВ, как и в предыдущих экспериментах, происходили в префронтальной коре и прилежащем ядре, что свидетельствовало об изменениях в интеграции эмоционально-мотивационных состояний из мезо-лимбических и мезокортикальных структур, отвечающих за обеспечение целенаправленного эмоционально мотивированного поведения.

Анализируя нейробиологические эффекты взаимодействия АНОВ и ионизирующих излучений, мы обнаружили сложный их характер: на всех уровнях организации ЦНС наблюдались как синергические, так и антагонистические отношения при комбинированном воздействии этих факторов. Примером синергического эффекта является нарушение долговременной памяти при комбинированном воздействии. Антагонистические эффекты проявились в том, что на интегративном уровне в ряде случаев изолированное действие АНОГ вызывало более выраженное угнетение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, нежели комбинированное воздействие АНОВ+облучение; то же относилось к уровню тревожности животных при 14-суточном воздействии. В моноаминергических системах эти эффекты проявились в более выраженном снижении концентрации адреналина в прилежащем ядре при облучении, а также в более резком снижении в префронтальной коре содержания метаболитов дофамина – диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) при вывешивании и триметокситиронина (ЗМТ) при облучении, чем при комбинированном воздействии. Но наиболее ярко антагонистические эффекты взаимодействия этих факторов проявились на молекулярном уровне. Так, произошло резкое повышение содержания mRNA в D₁ (в гипоталамусе) и D₂ (в стриатуме) рецепторах дофамина, а также еще более резкое его повышение в серотониновых транспортерах в обеих этих структурах при комбинированном воздействии. Аналогичная картина наблюдалась в этих же структурах с резким повышением экспрессии СОМТ – энзима, метилирующего дофаминергические структуры. Наши данные подтверждаются результатами, полученными при исследовании эффектов комбинированного действия АНОВ и гамма-излучения: выраженность апоптоза в коре мозга была выше при вывешивании, чем при комбинированном воздействии (Мао et al, 2016).

Возможность антагонистического характера взаимодействия данных ФКП явилась весьма неожиданным эффектом, требующим дальнейших исследований.

Резюмируя изложенное, можно сделать вывод о том, что нейробиологические эффекты взаимодействия АНОГ и ионизирующих излучений при их синхронном комбинированном действии несут характер, который мы назвали интерференционным, по аналогии с физическим явлением интерференции, проявляя синергический либо антагонистический эффекты, либо же появление новых эффектов в отношении поведения и метаболизма моноаминов. Не исключено, что проявление такого рода взаимодействия может приводить к нивелированию негативных последствий от воздействия этих факторов.

ГЕНОТОКСИЧЕСКАЯ И ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ, ИНДУЦИРОВАННАЯ ОКСИДОМ АЗОТА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА.

*Яшкина Е.И., Васильева С.В. *, Петрищева М.С. *, Осипов А.Н.*

ФГБУ ГНЦ Федеральный Медицинский Биофизический Центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва, Россия, el.i.gusarova@gmail.com

* Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской Академии наук,
Москва, Россия

Результатом изучения NO-метаболизма в клетках человека явилось создание современной модели канцерогенных новообразований при хронических воспалительных процессах и избытке NO. Предложен ряд гипотез, одна из которых - генерация свободных радикалов, структурных нарушений в ДНК и ингибирование клеточной пролиферации при действии NO. Для обоснования указанных гипотез в нашей работе кристаллический железо- серо- нитрозильный комплекс с тиосульфатом- ТНКЖтио- донор NO впервые изучен индивидуально и в сочетании с альтернативным газотрансмиттером H₂S, противоопухолевым антибиотиком доксорубицином и антиоксидантами. Изучены две линии опухолевых клеток человека (Jurkat и MCF-7), а также здоровые лимфоциты. Получены характеристики генерации активных форм кислорода (АФК), генотоксической (двунитевые разрывы (ДР) ДНК) и пролиферативной (Ki67+) активностей моно соединений и их комплексов. В клетках Т-лимфобластов линии Jurkat продукция АФК была многократно выше, в сравнении с MCF-7 и лимфоцитами крови. Во всех вариантах выявлена прямая зависимость уровней ДР ДНК от генерации АФК в клетках. Комплексная обработка клеток обеих опухолевых линий (доноры NO + доноры H₂S) двукратно снижала продукцию АФК (ROS- и RNS- радикалов) в сравнении с моно - обработкой донорами NO; аналогичная обработка клеток MCF-7 с последующей инкубацией (от 1 до 24 ч) в питательной среде в 1,2-1,5 раз снижала количество ДР ДНК в клетках. В работе впервые изучена комплексная обработка клеток противоопухолевым антибиотиком доксорубицином и донором ТНКЖтио. Доксорубин значительно - в 3,5 раз - ингибировал пролиферативную активность в клетках линии MCF-7, но максимальный уровень ингибирования – 6,4 раза - установлен в варианте с NO-донором ТНКЖтио. При комплексной обработке клеток NO-донором и антибиотиком (5:1) показано снижение пролиферативной активности MCF-7 в 5,8 раз. Полученные приоритетные результаты нашей фундаментальной работы перспективны для прогноза и совершенствования методов комплексной противоопухолевой терапии на основе кристаллических доноров оксида азота.

Научное издание

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КОСМИЧЕСКОЙ
РАДИОБИОЛОГИИ**

Материалы конференции

Д19-2017-70

Ответственный за подготовку сборника к печати *И. В. Кошлань*.

Сборник отпечатан методом прямого репродуцирования с оригиналов,
предоставленных оргкомитетом.

Подписано в печать 6.10.2017

Формат 60×90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная

Усл. печ. л. 5,75. Уч.-изд. л. 8,03. Тираж 130 экз. Заказ № 59246

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/