

ИЗМЕНЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ПЛОДОВИТОСТИ МОДЕЛЬНОГО ТЕСТ-ОРГАНИЗМА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ В ЮВЕНИЛЬНЫЙ И ПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОДЫ

CHANGES IN THE SURVIVAL AND FERTILITY OF THE MODEL TEST ORGANISM AFTER RADIATION IN THE JUVENILE AND PUBERTY PERIODS

**Л. Л. Куранова¹, Д. В. Ускалова¹, А. А. Жалнина¹,
Н. Б. Савина², С. Н. Корякин³, Е. И. Сарапульцева^{1,2,3}**
**L. L. Kuranova¹, D. V. Uskalova¹, A. A. Zhalnina¹,
N. B. Savina², S. N. Koryakin³, E. I. Sarapultseva^{1,2,3}**

¹Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского
ядерного университета «МИФИ», г. Обнинск, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,
г. Москва, Россия

³МРНЦ имени А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
kuranovaluda2000@mail.ru

¹Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering - branch of the National Research Nuclear University
“MEPhI”, Obninsk, Russia

²National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

³National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Obninsk, Russia

В работе проанализировано влияние протонного излучения в дозе 10 Гр на выживаемость и плодовитость ракообразных *Daphnia magna*. Дафнии подвергались облучению в ювенильный и пубертатный периоды онтогенеза. Показано, что протонное облучение не влияет на выживаемость рачков. Эффект протонного облучения проявляется в изменении более чувствительного показателя – плодовитости. Значимое снижение плодовитости *D. magna* может быть связано с цитотоксическим действием радиации на половые клетки и, возможно, отразится на последующих поколениях, что требует дополнительных исследований.

The work analyzes the effect of proton radiation at a dose of 10 Gy on the survival and fertility of crustaceans *Daphnia magna*. *Daphnia* were exposed to radiation during the juvenile and pubertal periods of ontogenesis. It has been shown that proton radiation does not affect the survival of crustaceans. The effect of proton radiation is manifested in a change in a more sensitive indicator – fertility. A significant decrease in the fertility of *D. magna* may be associated with the cytotoxic effect of radiation on germ cells and may affect subsequent generations, which requires additional research.

Ключевые слова: протонное излучение, терапевтические дозы, эффекты облучения, *Daphnia magna*, периоды онтогенеза, цитотоксичность.

Keywords: proton radiation, therapeutic doses, radiation effects, *Daphnia magna*, periods of ontogenesis, cytotoxicity.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2022-1-253-256>

Изучение эффектов и механизмов воздействия терапевтических доз протонного излучения на организм – важная задача биомедицины и радиобиологии. Исследования радиационно-индуцированных эффектов традиционно проводятся на клеточном и тканевом уровнях. Особый интерес представляет анализ эффектов на уровень целостного организма и создание надежной и доступной тест-системы первичного скрининга.

Цель данной работы – изучение действия протонного излучения в дозе 10 Гр на выживаемость и плодовитость модельного тест-организма ракообразных *Daphnia magna*, подвергшихся облучению в ювенильный и пубертатный периоды, а также поиск критических точек в онтогенезе, наиболее чувствительных к облучению.

Популярность *D. magna* как тест-объекта для экотоксикологических исследований связана с легкостью культивируются в лабораторных условиях, возможность анализировать целый комплекс тест-реакций, коротким жизненным циклом (2–3 месяца) и высокой плодовитостью. Биологические реакции протонного облучения на *D. magna* изучаются впервые.

Культивирование *D. magna* проводили в климатостате марки Р2 (Спецкомплектресурс, Россия), обеспечивающем поддержание оптимальных условий для роста и развития: температура 21°C, режим освещения 12/12 свет/тьма, вентилирование. Животных культивировали по 10 особей в стеклянных сосудах объемом 500 мл с отстоянной водопроводной водой, кормили раз в два дня суспензией зеленых водорослей *Chlorella vulgaris*

в концентрации 2 мгС/л. Было сформировано 10 опытных групп по 10 особей в каждой. Облучение животных протонами проводили в пластиковых контейнерах в объеме воды 50 мл в разных возрастных группах (по 10 особей в каждой группе от 1- до 10-суточного возраста) в дозе 10 Гр (мощность дозы – 10,8 Гр/мин, энергия – 83 мэВ). После облучения *D. magna* пересаживали поодиночке в стеклянные лабораторные стаканы с 50 мл культуральной воды. Животные контрольной группы находились в тех же условиях, но без облучения. Учет выживаемости и плодовитости проводили согласно международной методике до 21-суточного возраста [1]. Погибших и новорожденных *D. magna* учитывали и удаляли. Статистический анализ выживаемости осуществляли по непараметрическому χ^2 -критерию, плодовитости – по критерию Манна-Уитни.

На рис. 1 представлена выживаемость *D. magna* в контроле и в облученных группах к 21 суткам эксперимента.

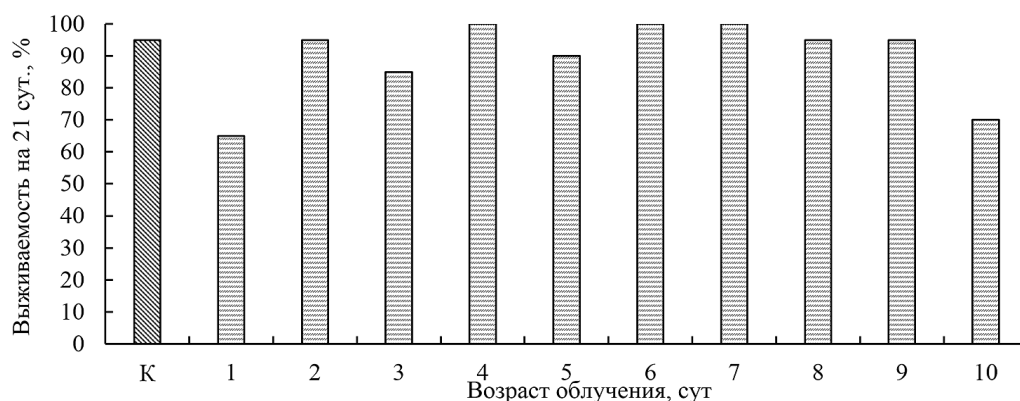


Рисунок 1 – Выживаемость *D. magna* после протонного облучения в дозе 10 Гр на 21 сутки эксперимента (* $p < 0,05$)

Выживаемость особей контрольной группы составила 95 %. Значимых различий между контрольной и облученными группами методом χ^2 не обнаружено. Наши данные согласуются с результатами, полученными на другом беспозвоночном модельном тест-организме *Drosophila melanogaster* [2]. Облученные протонами личинки успешно развивались до имаго. Одним из важных биологических показателей радиационного воздействия на организм является снижение плодовитости и репродуктивного успеха популяции, так как выживание вида связано с количеством новорожденных особей и качеством потомства. На рис. 2 показано снижение общей плодовитости *D. magna* во всех облученных группах по сравнению с контролем.

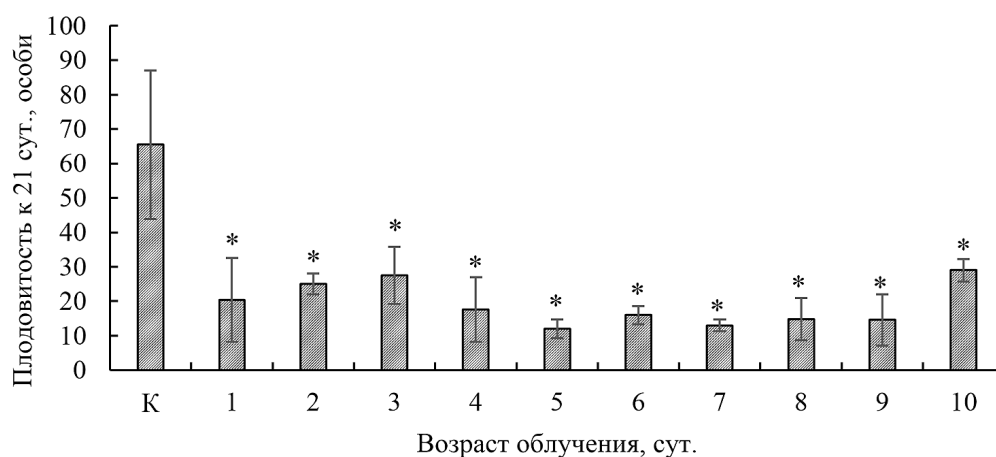


Рисунок 2 – Общая плодовитость *D. magna* после протонного облучения в дозе 10 Гр к 21 суткам эксперимента (* $p < 0,05$)

На рис. 2 видно, что плодовитость значимо снижается вне зависимости от возраста животных, в котором они были облучены. В ювенильный период, который длится у *D. magna* с рождения и до 5-суточного возраста, происходит закладка яиц и их продвижение в выводковую камеру. Пубертатный период длится примерно с 6-суточного возраста до 10-суточного, когда вымет первой молодежи. Эти процессы сопряжены с синтезом АТФ и активацией всех метаболических реакций. *D. magna* в данные периоды онтогенеза наиболее уязвимы для разных антропогенных факторов, в том числе для радиации.

Для определения механизмов снижения общей плодовитости был проведен анализ ее отдельных компонентов. На рис. 3 представлено изменение количества помётов на самку *D. magna*.

Во всех облученных группах количество пометов значительно снижено по сравнению с контролем. Количество новорожденных на помёт также значительно снижается как в ювенильный, так и в пубертатный период (рис. 4).

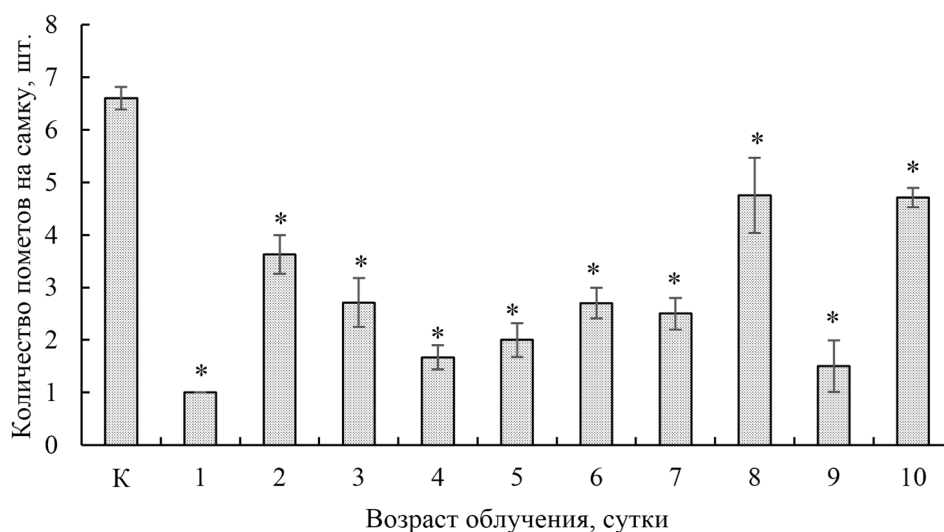


Рисунок 3 – Изменение количества пометов на самку *D. magna* после протонного облучения в дозе 10 Гр за 21 сутки эксперимента (* $p < 0,05$)

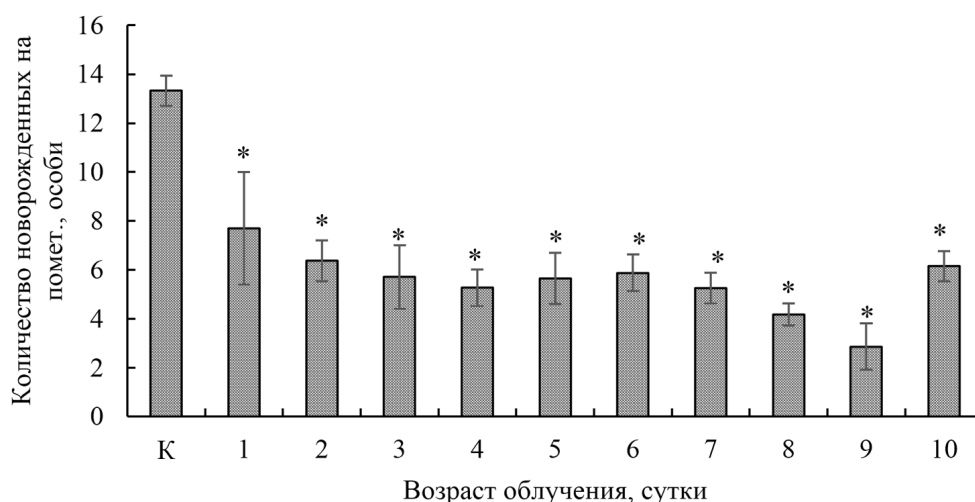


Рисунок 4 – Изменение количества новорожденных на помёт после протонного облучения *D. magna* в дозе 10 Гр за 21 сутки эксперимента (* $p < 0,05$)

Анализ общей плодовитости и ее компонентов – количества и размера пометов на самку, свидетельствует о высокой чувствительности модельного животного в ювенильный и пубертатный периоды онтогенеза к действию протонного излучения. Известно, что в ювенильный период половые клетки активно делятся и происходит закладка яиц. В этот период в момент поступления из яичника в выводковую камеру яйцо заключено в две очень тонкие тесно прилегающие друг к другу мембраны, что делает их очень уязвимыми к внешним воздействиям. При этом действие негативных факторов на материнский организм может проявиться у потомства через повреждения, полученные половыми клетками, которые дают начало эмбриону, либо путем действия повреждающих факторов на соматические клетки зародыша внутриутробно.

Эффекты протонного облучения, характерные для активно делящихся клеток, обнаружены и у других животных. Так у млекопитающих после кратковременного облучения в дозе 10 Гр, наблюдалось поражение кроветворной системы [3]. Воздействие, как протонов, так и γ -квантов, приводило к подавлению митотической активности клеток и к образованию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга.

Ранее нами было показано [4], что при дозах γ -излучения от 0,1 до 20 Гр плодовитость *D. magna* значительно снижалась. Острое облучение рачков в ювенильный и пубертатный периоды онтогенеза значительно снижало количество и размер пометов, что объяснялось окислительным стрессом [5]. Эффекты γ -облучения имели трансгенерационный характер. Можно предположить, что облучение протонами связано с цитотоксическим действием радиации на половые клетки и, возможно, отразится на последующих поколениях, что требует дополнительных экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. OECD, 2012. Guideline for the Testing of Chemicals No 211. *Daphnia magna* Reproduction Test. Organization for Economic Cooperation and development / Paris. – 2012. – p. 202.
2. Koichiro Nakajima, Tian Xiang Gao, Kazuhiko Kume, Hiromitsu Iwata, Shuichi Hirai, Chihiro Omachi, Jun Tomita, Hiroyuki Ogino, cMunekazu Naitoe, Yuta Shibamoto. Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*, as an In Vivo Tool to Study the Biological Effects of Proton Irradiation / Koichiro Nakajima, Tian Xiang Gao, Kazuhiko Kume, Hiromitsu Iwata, Shuichi Hirai, Chihiro Omachi, Jun Tomita, Hiroyuki Ogino, cMunekazu Naitoe, Yuta Shibamoto. // Radiation research. 2020. № 194.
3. Даренская Н. Г. Реакция кроветворной системы // Радиационная медицина. – 2004. – №. 4. – С. 295-307.
4. Михальский, А. И., Савина, Н. Б., Сарапульцева, Е. И., Бычкова, И. Б. Аналитическое исследование закономерностей структуры кривых дожития экспериментальных объектов в модельных опытах на *Daphnia magna* // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33. – №. 3. – С. 459-470.
5. Сарапульцева Е. И., Ускалова Д. В., Иголкина Ю. В. Анализ отдалённых радиационно-индуцированных биохимических эффектов у ракообразных нескольких поколениях // труды регионального конкурса проектов фундаментальных научных исследований. – 2016. – С. 282-286.

АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ДИНАМИКИ РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У *DAPHNIA MAGNA* ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

ANALYSIS OF SURVIVAL AND DYNAMICS OF OXIDATIVE STRESS IN *DAPHNIA MAGNA* AFTER PROTON RADIATION

А. А. Жалнина¹, Д. В. Ускалова¹, Л. Л. Куранова¹, Н. Б. Савина², С. Н. Корякин³, Е. И. Сарапульцева^{1,2,3}
A. A. Zhalnina¹, D. V. Uskalova¹, L. L. Kuranova¹, N. B. Savina², S. N. Koryakin³, E. I. Sarapultseva^{1,2,3}

¹Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», г. Обнинск, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Москва, Россия

³МРНЦ имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
alex.a.zhalnina@yandex.ru

¹Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering – branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

²National Research Nuclear University “MEPhI”, Moscow, Russia

³National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Изучение эффектов и механизмов действия терапевтических доз протонного излучения на организм – важная задача биомедицины и радиобиологии. Одним из механизмов действия ионизирующего излучения является окислительный стресс. Практическое применение нашел метод МТТ-теста. В нашем исследовании методом МТТ-теста проведен анализ оксидативного стресса после протонного облучения в дозе 10 Гр, а также обнаружен критический период онтогенеза на примере *Daphnia magna*. Наблюдается значимое по сравнению с контролем снижение метаболической активности в клетках *D. magna*, облученных в ювенильный и пубертатный периоды онтогенеза, особенно в 1- и 2-суточном возрасте. Выживаемость всех опытных групп *D. magna* не снижается по сравнению с контролем независимо от сроков облучения.

The study of the effects and mechanisms of action of therapeutic doses of proton radiation on the body is an important task of biomedicine and radiobiology. One of the mechanisms of action of ionizing radiation is oxidative stress. The MTT test method has found practical application. In our study, the MTT test method was used to analyze oxidative stress after proton irradiation at a dose of 10 Gy, and also revealed a critical period of ontogenesis on the example of *Daphnia magna*. There is a significant decrease in metabolic activity compared to the control in cells of *D. magna* irradiated during the juvenile and pubertal periods of ontogenesis, especially at 1- and 2-day-old age. The survival rate of all experimental groups of *D. magna* does not decrease in comparison with the control, regardless of the duration of irradiation.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, терапевтические дозы, окислительный стресс, критические периоды онтогенеза.