

«Наука едина и нераздельна. Нельзя заботиться о развитии одних научных дисциплин и оставлять другие без внимания. Нельзя обращать внимание только на те, приложение к жизни которых сделалось ясным, и оставлять без внимания те, значение которых не осознано и не понимается человечеством»

Владимир Иванович Вернадский



# ЛАБОРАТОРИЯ РАДИОЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

**Название темы НИР 2018-2020:** «Механизмы биогенной миграции радионуклидов и закономерности возникновения отдаленных последствий индуцированных у растений и животных в условиях хронического радиационного и химического воздействия» Регистрационный номер темы НИР: АААА-А18-11801190102-7

**Тема лаборатории:** «Закономерности и механизмы формирования и возможности модификации биологических эффектов тяжелых естественных радионуклидов и других физико-химических факторов»

## **Состав:**

и.о. зав. лабораторией Раскоша О.В.  
в.н.с., д.б.н. Кудяшева А.Г.  
в.н.с., д.б.н. Ермакова О.В.  
с.н.с., к.б.н. Башлыкова Л.А.  
с.н.с, к.б.н. Велегжанинов И.О.  
асп., ст. лаб.-иссл. Ермакова А.В.  
ст. лаб. Башлыкова Г.В.  
ст. лаб. Старобор Н.Н.  
ст. лаб. Мыльникова С.П.



# Эффекты воздействия хронического облучения в малых дозах

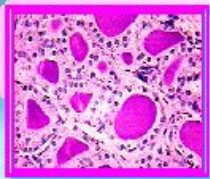
$\alpha$   $\beta$   $\gamma$



Молекулярный  
**Клеточный**

- *Генотоксические эффекты*
  - рост количества клеток с микроядрами (ЩЖ)
- *Нарушение контроля клеточного деления*
  - развитие микроаденом КН

**Тканевой, структурно-функциональных единиц**



- *Изменение морфометрических показателей*
  - клеток и их ядер (ЩЖ, КН),
  - толщины зон КН
  - соотношения тканевых компонентов органов
- *Развитие признаков альтерации (повреждения)*
- *Компенсаторные реакции*
  - гипертрофия и гиперплазия клеток
  - усиление процессов фолликулогенеза (ЩЖ)

**Органый**



- *Изменение содержания гормонов в органе*
- *Изменение массы органа*

**Организменный**



- *Изменение морфофизиологических показателей*
  - масса тела
  - индекс органов
  - уровень гормонов в крови
- *Изменение состояния репродуктивных органов, показателей развития и роста молодняка*

**Популяционный**



- *Плодовитость и эмбриональные потери*
- *ИР и скорость полового созревания*
- *Выживаемость потомства*

**Направление** - определение закономерностей и механизмов ответных реакций животных организмов на воздействие факторов физической и химической природы низкой интенсивности.

## **В УСЛОВИЯХ ЕСТЕСТВЕННОЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ**

Основной **целью** является изучение эффектов хронического облучения в малых дозах у животных организмов в условиях естественной среды их обитания.

**Задачи:** 1. Изучение динамики изменений численности животных, половозрастной структуры популяций животных, морфофизиологических показателей, процессов размножения и развития.

2. Выявление особенностей гисто- и цитоморфологического состояния кроветворной и эндокринных систем, энергетического обмена в тканях животных.

3. Характеристика изменений исследуемых параметров в зависимости от пола, возраста, фазы популяционного цикла и радиозэкологических условий обитания животных.

Результаты многолетнего радиозэкологического мониторинга северо-таежных экосистем с повышенным фоном естественной радиоактивности представляют собой уникальную основу для развития представлений о биологическом действии радиационного фактора на животный мир и формировании систем защиты биосферы от техногенного воздействия.



Количество публикаций в базе Scopus по запросу «radiation effects in high doses in animals» в 15 раз больше чем по запросу “chronic radiation exposure in low doses in animal».

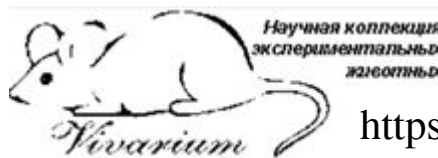
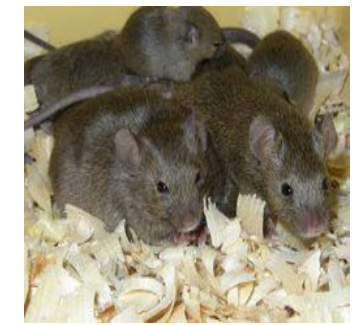
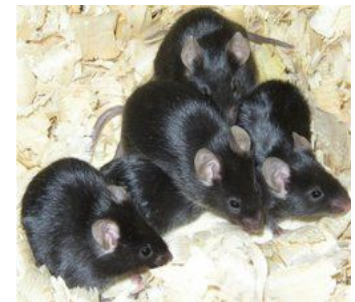
# Уникальная научная установка «Научная коллекция экспериментальных животных»

Руководитель проф., д.б.н. В.Г. Зайнуллин  
Куратор к.б.н. О.В. Раскоша

В Коллекции поддерживаются животные, соответствующие научной тематике отдела радиозэкологии и предназначенные для исследования закономерностей и механизмов развития ответных реакций на воздействие факторов физической и химической природы низкой интенсивности в природной среде и в эксперименте.

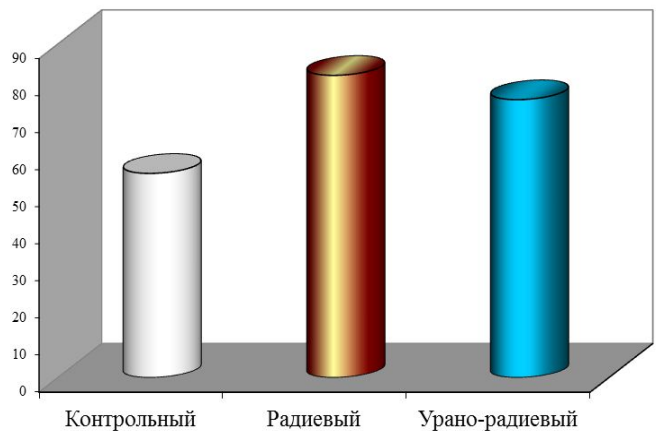
## Коллекция состоит из:

- мышей линии *Af*;
- мышей линии *СВА*;
- мышей линии *Balb/C*;
- мышей линии *С57BL/6*;
- белых беспородных мышей;
- крыс линии *Wistar*;
- полевок-экономок (*Alexandromys oeconomus* Pall.) и рыжих полевок (*Myodes glareolus*), отловленных в природных условиях на территориях с повышенным и нормальным уровнем радиоактивности.

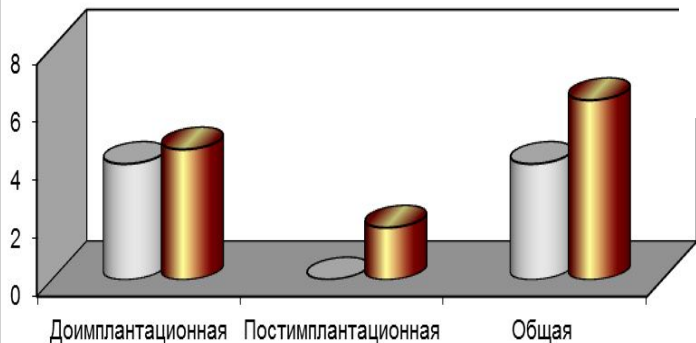


<https://ib.komisc.ru/rus/animals>

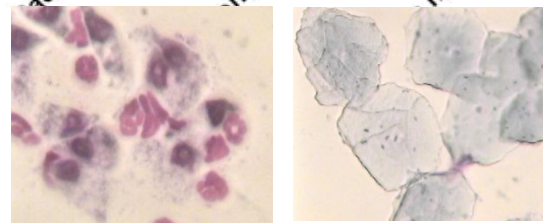
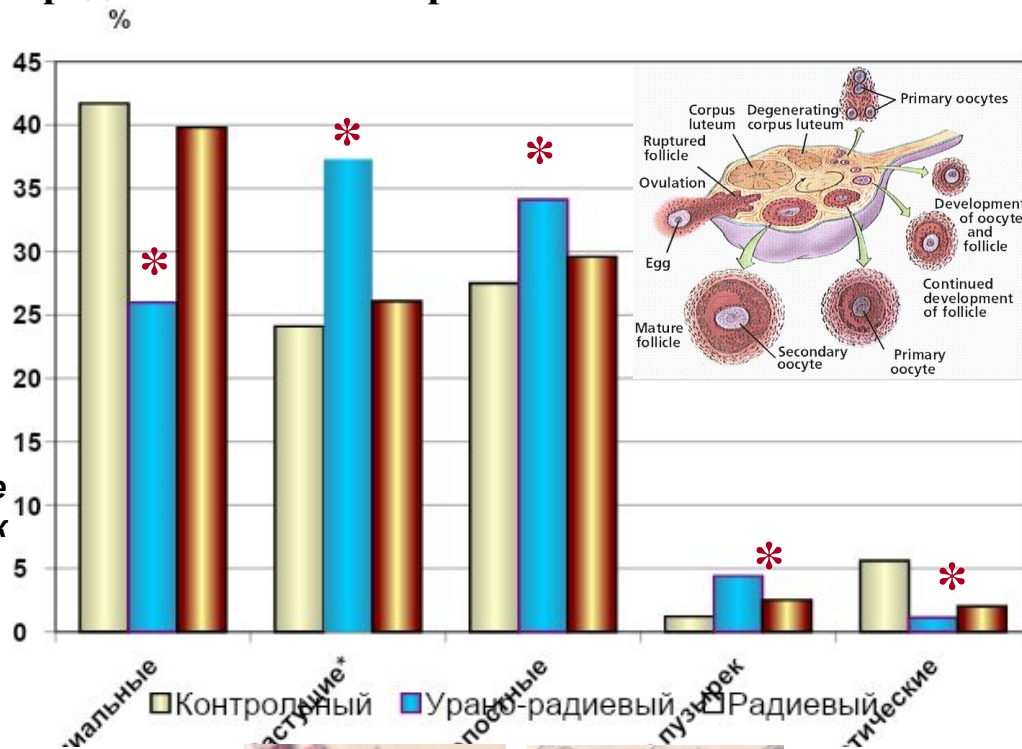
## Стратегия размножения полевок-экономок, обитающих на участках с повышенным уровнем радиоактивного загрязнения



**Интенсивность размножения = отношение фактического числа пометов к потенциальному числу пометов**



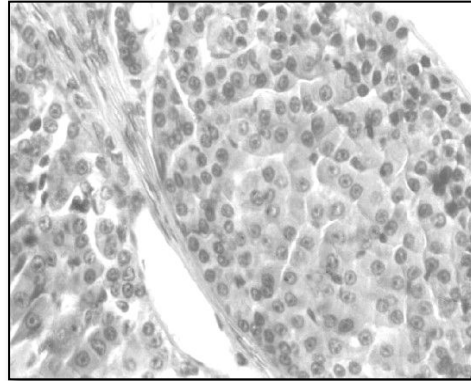
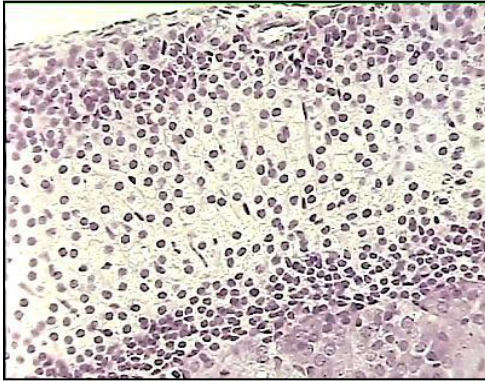
**На территориях с повышенным уровнем радиации популяция полевок характеризуется снижением продолжительности жизни, высокими показателями эмбриональной и постэмбриональной смертности и укорочением репродуктивного периода. Эти внутривидовые сдвиги компенсируются более высокой интенсивностью размножения и повышением плодовитости самок, что способствует сохранению численности популяции.**



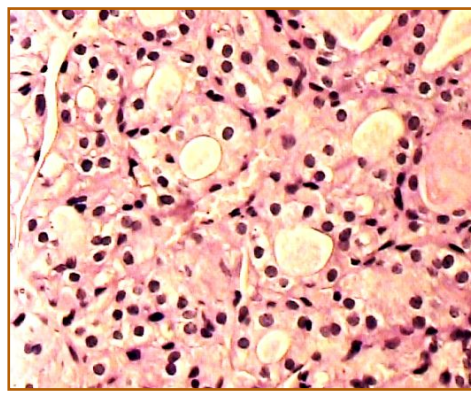
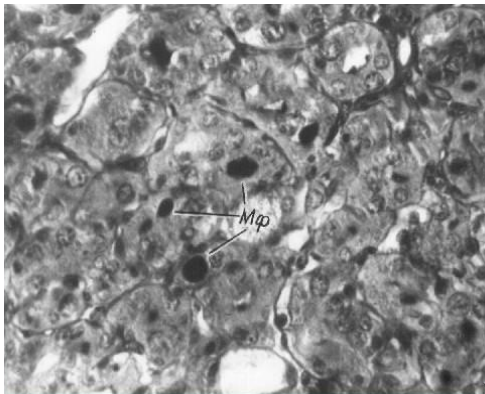
Определение фазы эстрального цикла

# Хроническое действие ионизирующей радиации на органы эндокринной системы

## НАДПОЧЕЧНИКИ



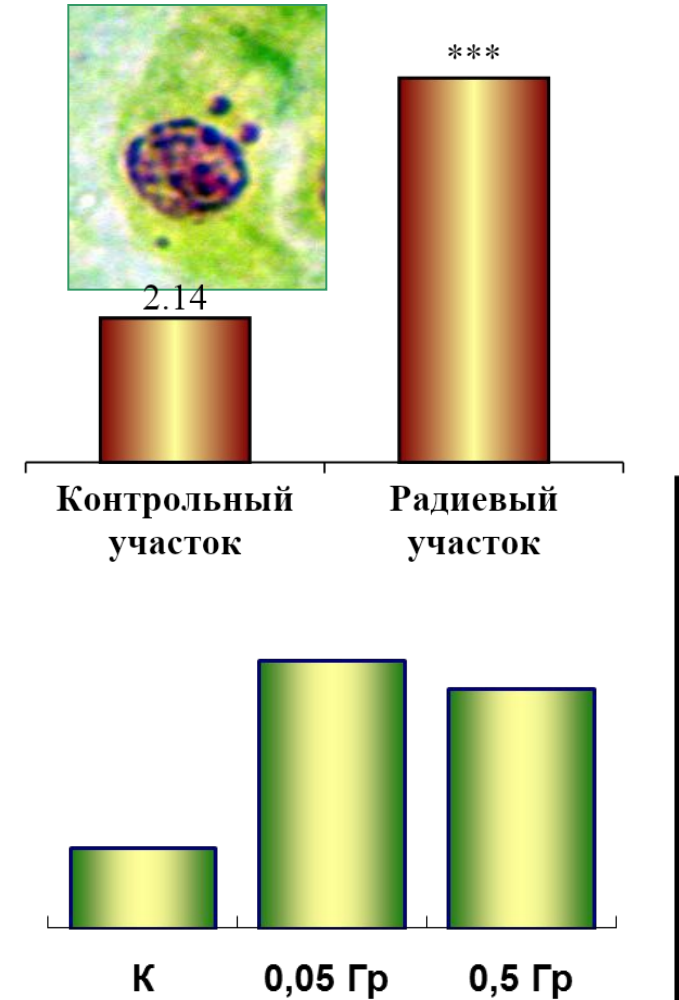
## ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА



В ПЕРВЫЙ ГОД ПОСЛЕ  
АВАРИИ НА ЧАЭС

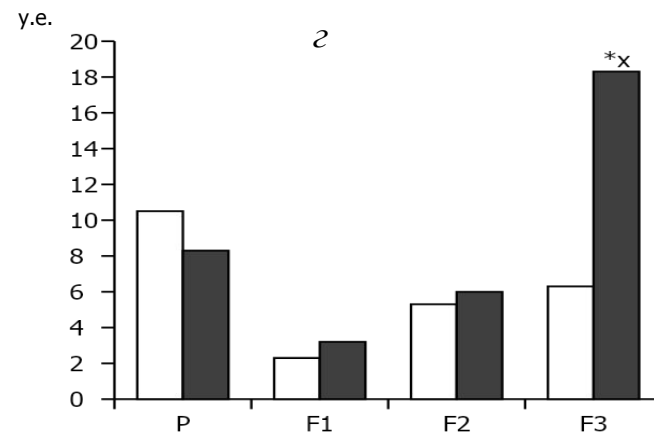
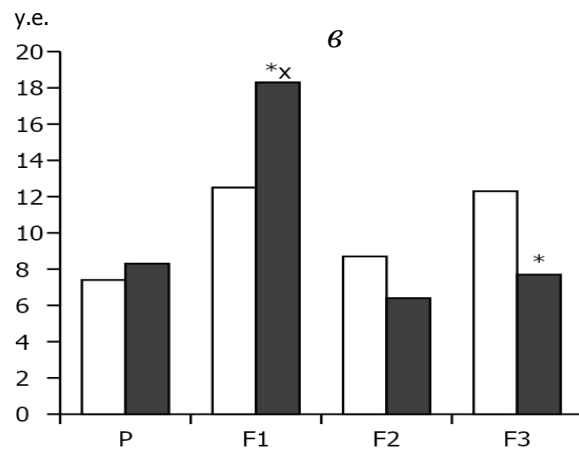
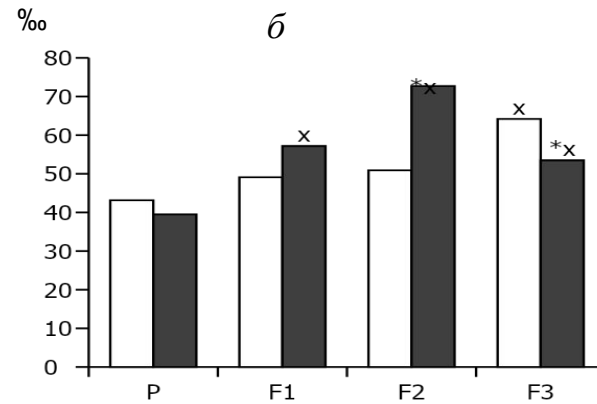
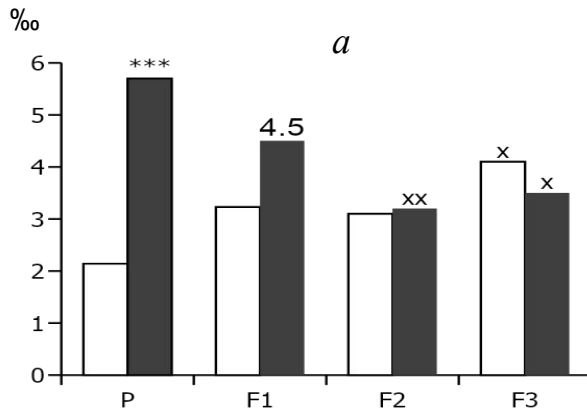
РАДИЕВЫЙ  
УЧАСТОК

## ЧАСТОТА КЛЕТОК С МИКРОЯДРАМИ





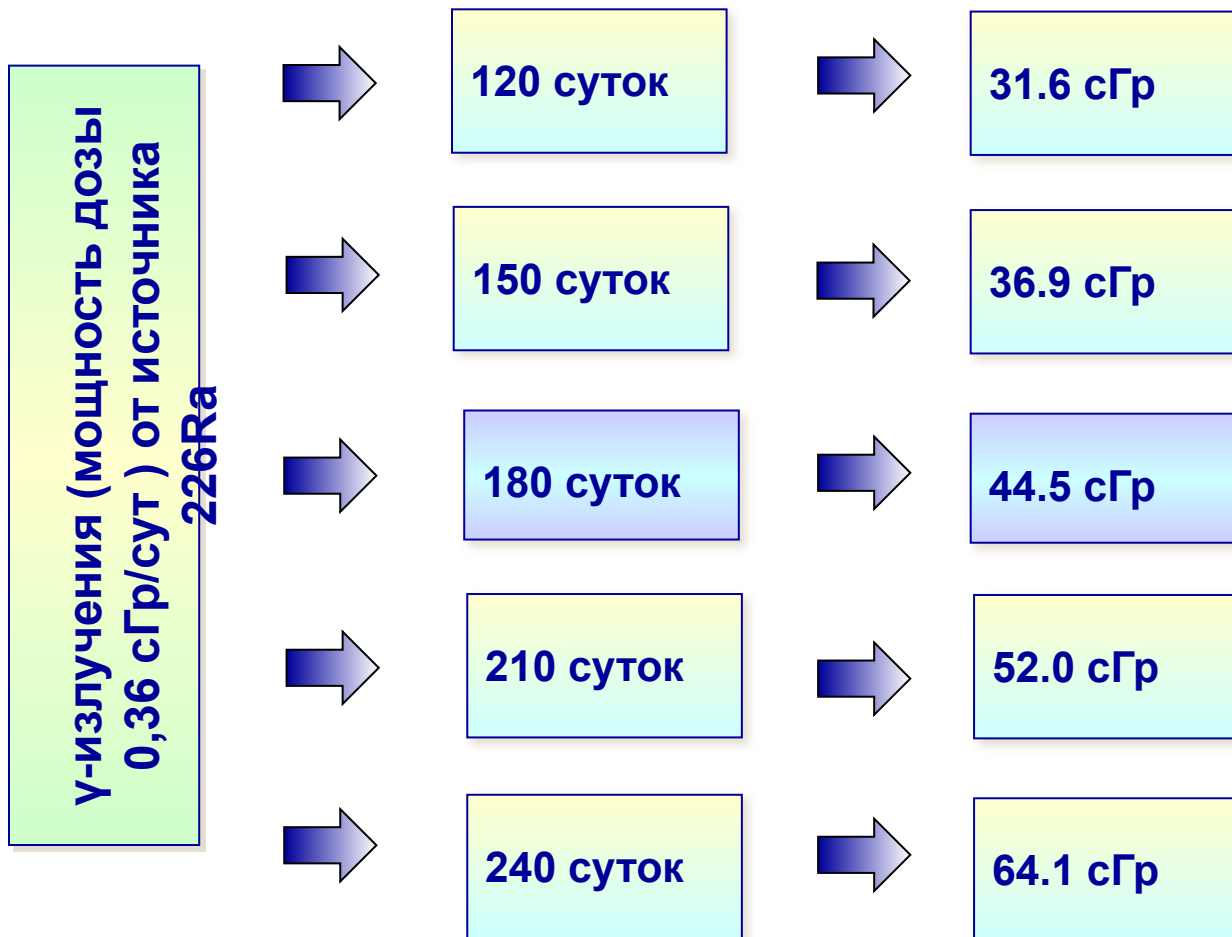
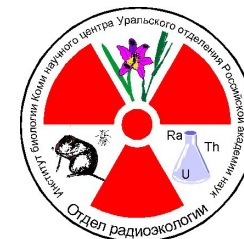
# Эффекты в клетках полевок с контрольного и радиевого участков, и у их необлученных потомков (F1-F4).



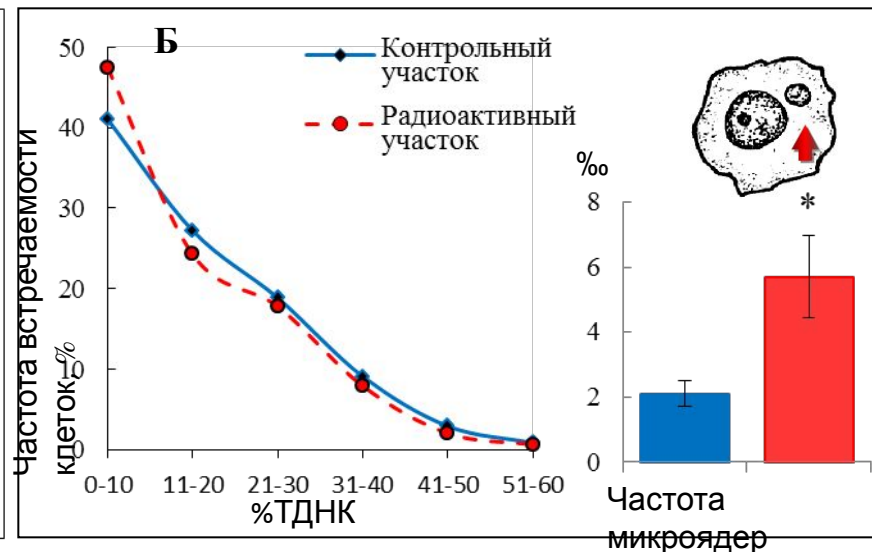
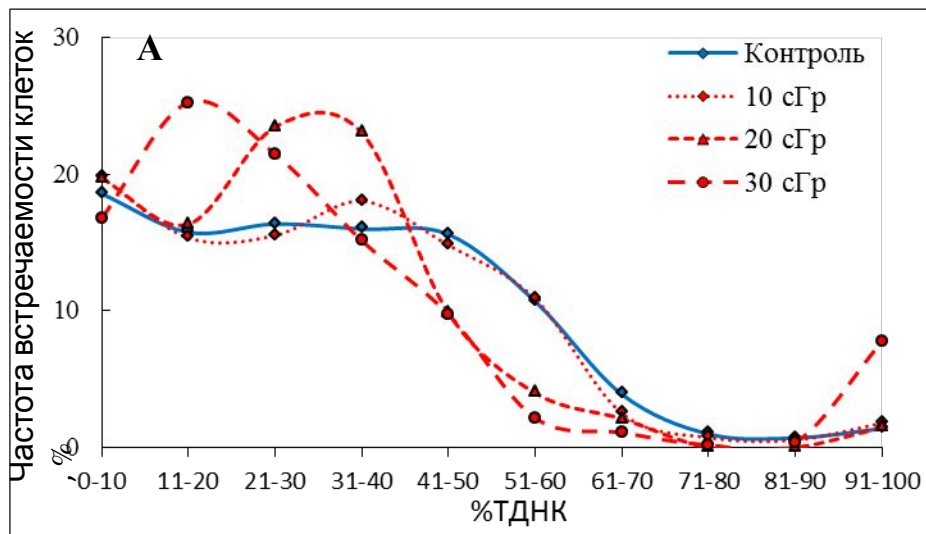
а - уровень клеток с микроядрами; б - частота клеток на стадии апоптоза; в – доля двунитевых разрывов ДНК (по оси абцисс: момент хвоста по П. Оливе) и г – доля однострунчатых разрывов ДНК (по оси абцисс: момент хвоста по П. Оливе).



# Условия эксперимента



# Цитогенетические эффекты в щитовидной железе мелких млекопитающих после воздействия ионизирующего излучения в малых дозах в природной среде и в эксперименте



Гистограммы распределения ДНК в хвосте «кометы» (%ТДНК) в клетках щитовидной железы мышей линии Af (А) и полевок-экономок (Б) после хронического воздействия  $\gamma$ -излучения в малых дозах.

Обнаружены различия в проявлении радиационно-индуцированных эффектов у животных из природных популяций и у лабораторных мышей. У полевок-экономок при длительном обитании в условиях повышенного радиационного фона прослежен генотоксический эффект воздействия ионизирующей радиации на фолликулярный эпителий щитовидной железы, заключающийся в усиленном формировании клеток с микроядрами по сравнению с контролем, а в модельных экспериментах на мышах линии Af после хронического облучения (дозы 20 и 30 сГр) выявлены изменения в тиреоидных клетках по фрагментации ДНК.

В связи с глобальными масштабами радиационного загрязнения актуальна оценка и прогнозирование состояния потомства, рожденного от облученных родителей.

## Воздействие $\gamma$ -излучения от источника $^{226}\text{Ra}$

(мощности экспозиционной дозы 150 мкЗв/ч)

10 сГр (29 сут.)

20 сГр (56 сут.)

30 сГр (85 сут.)



**P**



**F<sub>1</sub>**



**F<sub>1</sub>**



**F1-F6**



# Морфофизиологические показатели мышей линии Af после хронического $\gamma$ -облучения

Группы животных	n	Масса животных, г	Индексы		
			селезенка	печень	семенники
<b>10 сГр</b>	5	31,1±1,9	5,1±0,4	44,5±1,8	2,9±0,2
<b>Контроль к 10 сГр</b>	6	27,7±1,2	5,9±0,5	49,4±1,6	3,4±0,1
<b>20 сГр</b>	6	27,3±0,6	5,3±0,5	46,5±2,3	3,2±0,1
<b>Контроль к 20 сГр</b>	5	24,4±0,7	7,3±1,5	49,9±3,1	3,3±0,1
<b>30 сГр</b>	11	27,6±1,0	6,4±0,8	44,9±0,9	3,4±0,1
<b>Контроль к 30 сГр</b>	7	27,3±1,8	6,4±0,8	48,2±2,1	3,2±0,1

n – количество животных



## Показатели размножения мышей после хронического гамма-облучения, и у их потомков (за 3 мес).

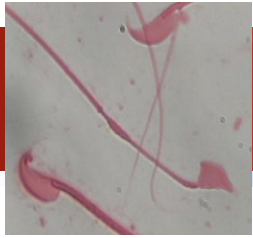
Показатель	Вариант эксперимента (поглощенные дозы)			
	Контроль	10 сГр	20 сГр	30 сГр
Число детенышей на самку	4.3±0.5	6.5±0.9*	6.9±0.4***	6.5±0.6**
Число детенышей в помете	4.1±0.3	4.7±0.3	6.1±0.8*	6.0±0.4**
Число пометов на самку	1.1±0.2	1.4±0.3	1.1±0.2	1.1±0.1

Показатель	F1 от контрольных животных	F1 от облученных животных (30 сГр)
Число детенышей на самку	5.1±1.3	10.8±2.2**
Число детенышей в помете	4.3±0.5	6.1±0.6**
Число пометов на самку	1.2±0.3	1.8±0.4

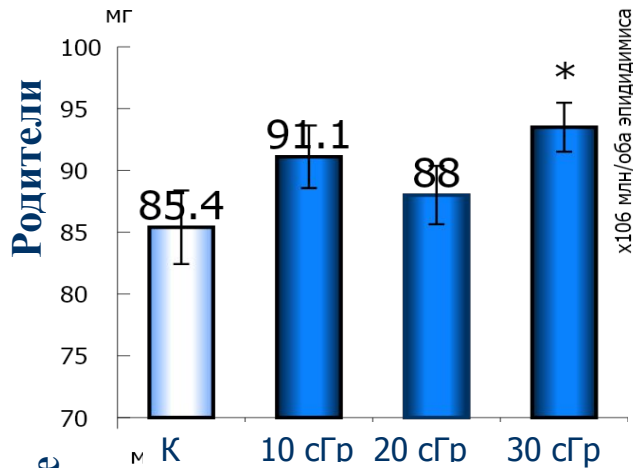


Различия с контролем статистически значимы при \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  и \*\*\* $p < 0.001$ .

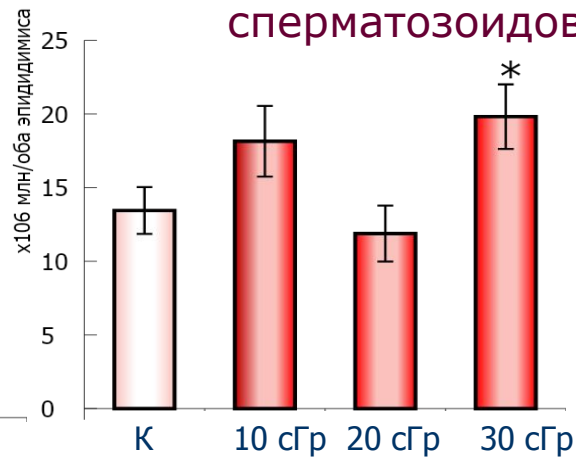
# Показатели репродуктивной системы самцов мышей после хронического облучения в малых дозах, и их потомков



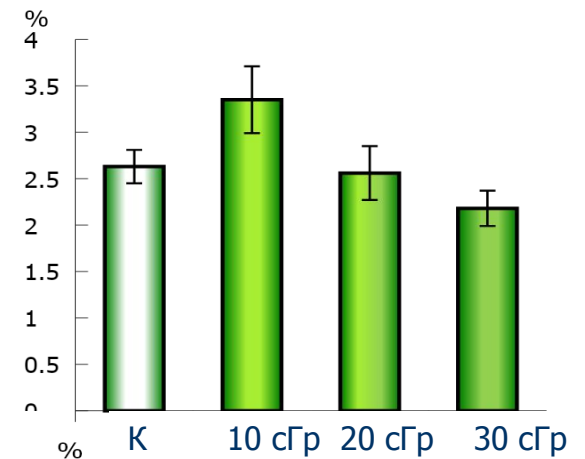
**Масса семенников**



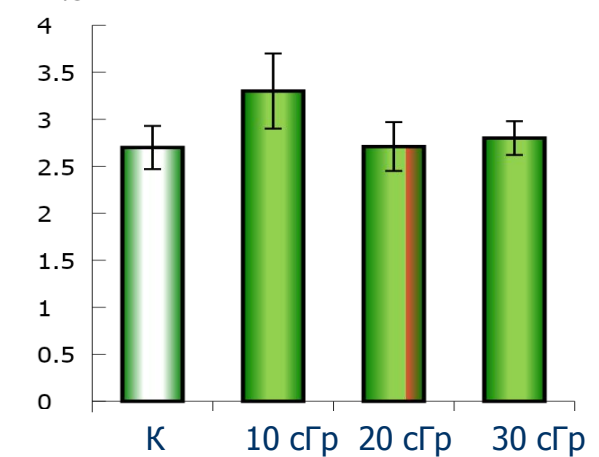
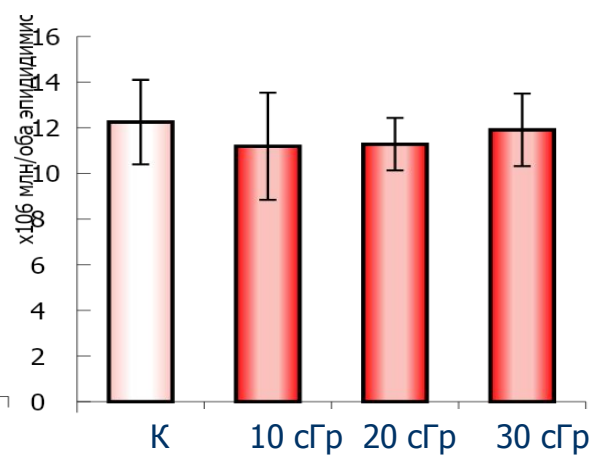
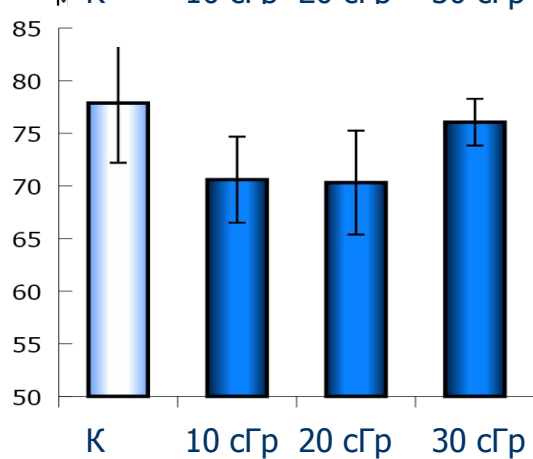
**Количество эпидидимальных сперматозоидов**



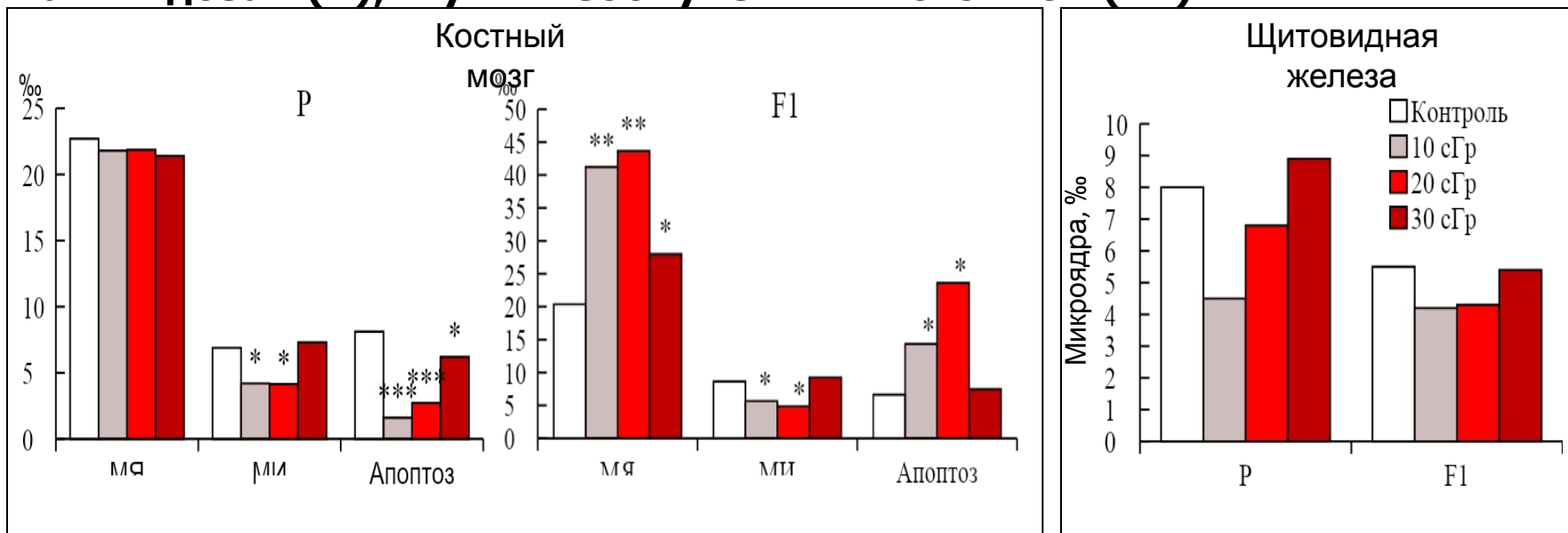
**Частота АГС**



**Первое поколение**

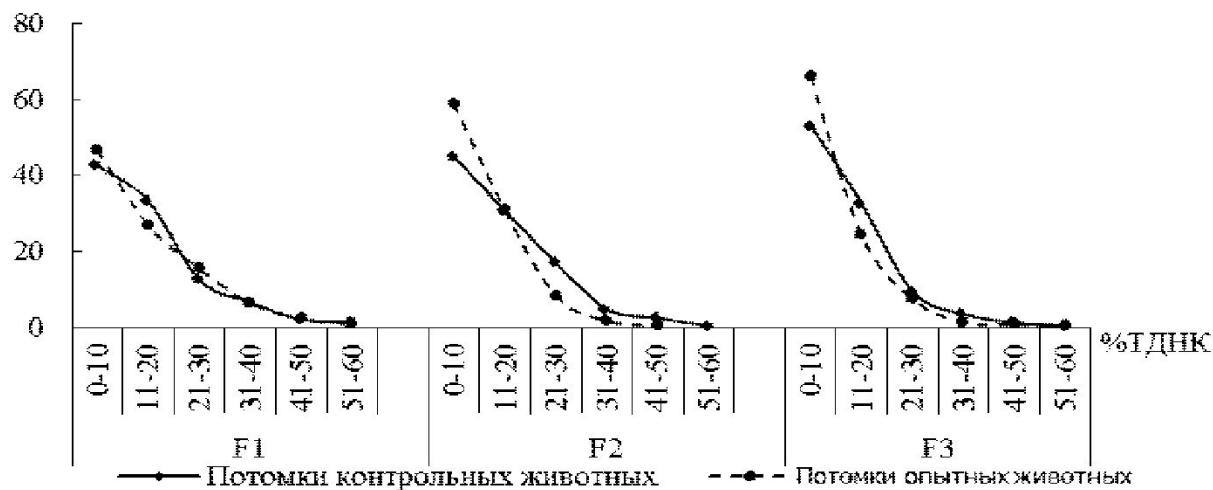


# Цитогенетические эффекты в клетках костного мозга и щитовидной железы мышей линии Af, подвергнутых хроническому $\gamma$ -облучению в малых дозах (P), и у их необлученных потомков (F1).

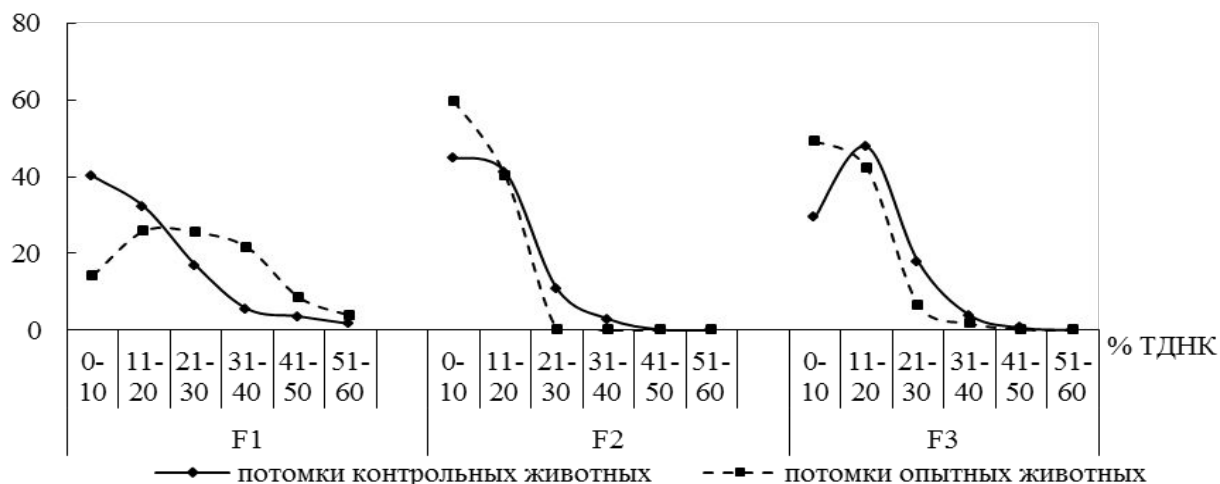


В ответ на действие ионизирующего излучение в малых дозах более выраженные цитогенетические эффекты установлены в костном мозге по сравнению со щитовидной железой. Важным является выявленная в костном мозге нелинейная зависимость проявления нестабильности генома от дозы облучения, когда большая эффективность наблюдалась после более низких доз радиационного воздействия (10 и 20 сГр по сравнению с 30 сГр). Результаты, полученные на потомках  $F_1$ , подтверждают данные о наследуемости эффектов радиационно-индуцированной нестабильности генома - обнаруженные в потомстве нарушения, проявлялись, как и у родителей, преимущественно в клетках костного мозга с наследованием нелинейного характера зависимости доза-эффект.

# Цитогенетические эффекты в разных органах мышей потомков (F1-F3), полученных от облученных животных



Распределения ДНК в хвосте «комет» (%ТДНК) в клетках щитовидной железы потомков (F1-F3) мышей линии Af, облученных в дозе 30 сГр.

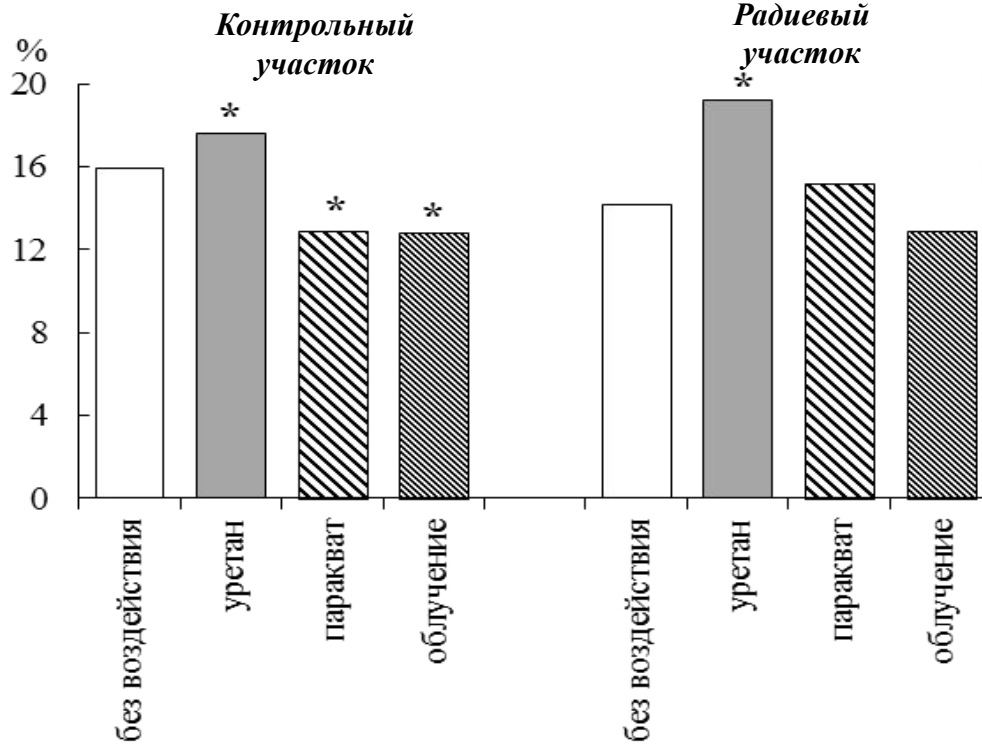


Распределения ДНК в хвосте «комет» (%ТДНК) в клетках костного мозга потомков (F1-F3) мышей линии Af, облученных в дозе 30 сГр.

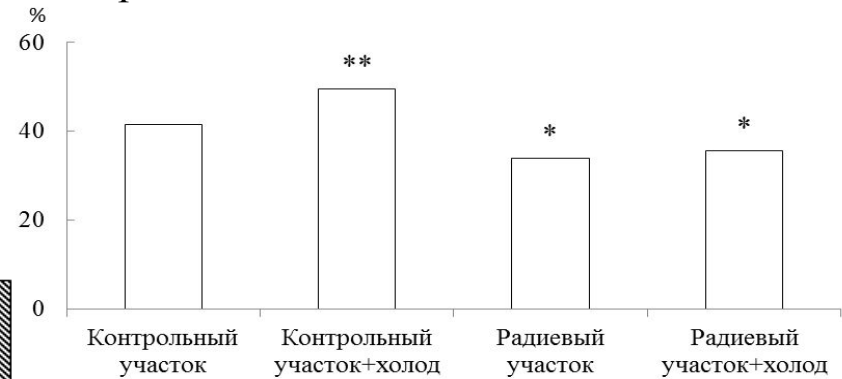


# ИЗМЕНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТКИ И ТКАНИ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

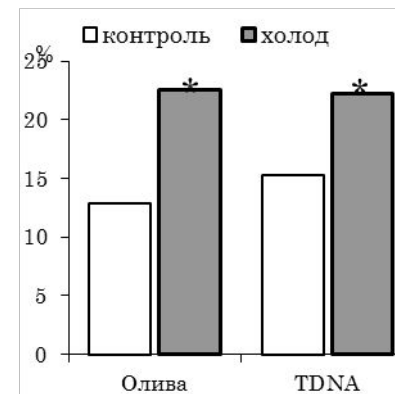
С помощью нагрузочных тестов выявление резервного потенциала органов и тканей животных, находящихся под воздействием неблагоприятных факторов среды, что определяет готовность организма адекватно реагировать на новое непредвиденное воздействие.



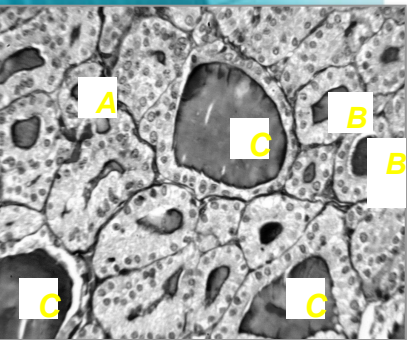
Содержание ДНК в «хвосте кометы» (%TDNA) в клетках щитовидной железы половозрелых полевок экономок из природных популяций, и модификация после дополнительных воздействий.



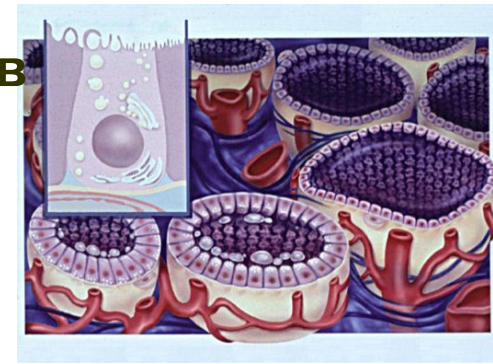
Объемная плотность фолликулярного эпителия в щитовидной железе полевок-экономок, обитающих на разных участках после дополнительного воздействия холодом.



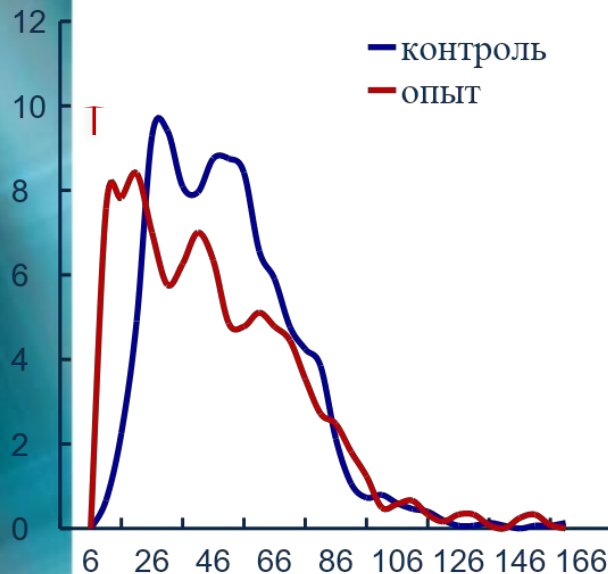
Влияние холодового воздействия (-5°C) в течение двух часов на уровень фрагментации ДНК в тироцитах половозрелых самцов мышей линии CBA/lac.



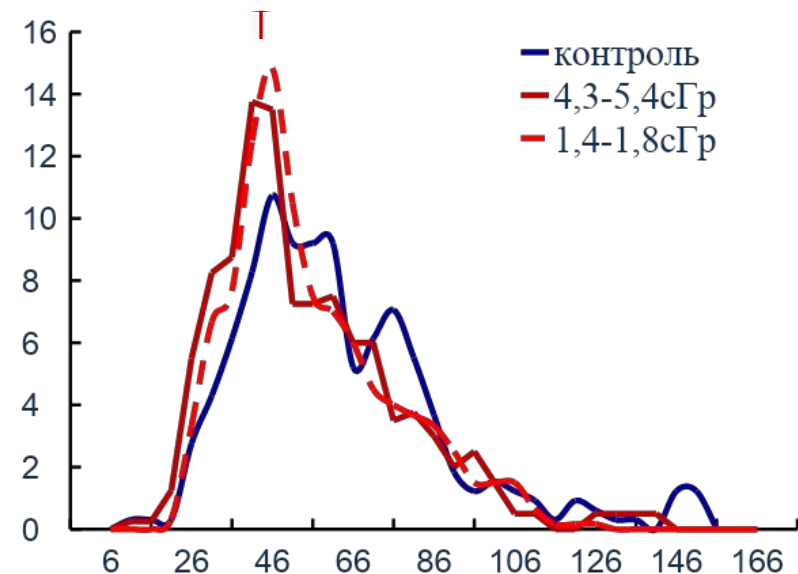
## Спектр распределения фолликулов различного диаметра в щитовидной железе



□ **Природные условия суммарная доза 1.2–24.0 сЗв/год (полевки-экономки)**



□ **Хроническое  $\gamma$  – облучение в дозах 1,4–5,4 сГр (мыши линии СВА)**



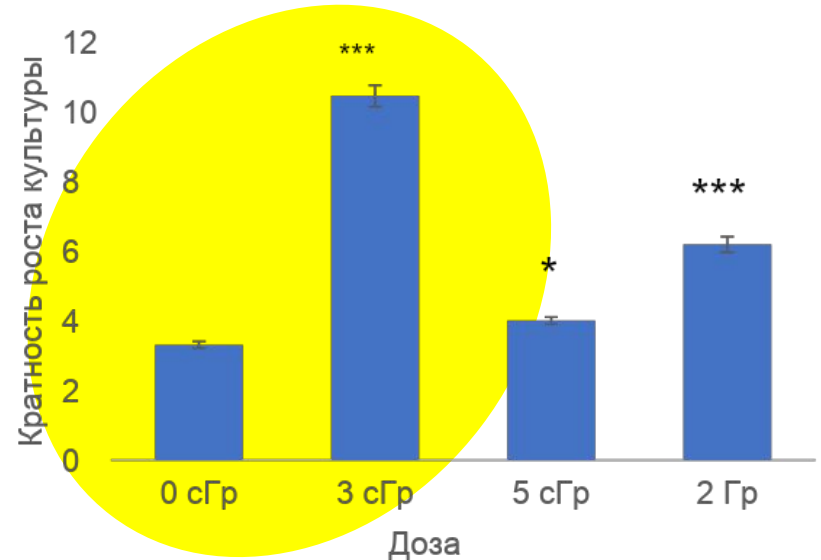
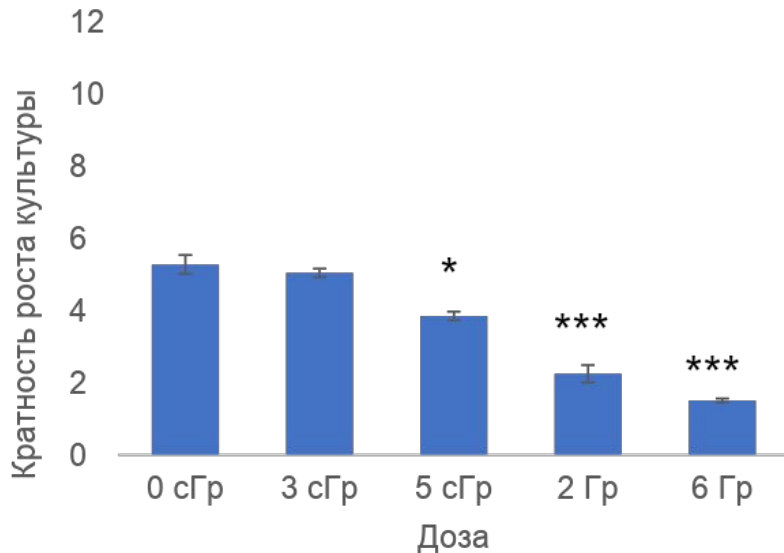
**Увеличение количества мелких фолликулов, обладающих повышенным пролиферативным потенциалом и уровнем метаболизма, может быть расценено, как неспецифическая адаптивная реакция органа на хроническое радиационно-индуцированное повреждение железистых клеток.**

# ОБЛУЧЕНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА В МАЛЫХ ДОЗАХ ПРИВОДИТ К ОТСРОЧЕННОМУ УСКОРЕНИЮ ПРОЛИФЕРАЦИИ ИХ ПОТОМКОВ

1-11 дней после облучения



31-37 дни после облучения



\* и \*\*\* - Различия с контролем (0 сГр) достоверны при  $p < 0.05$  и  $p < 0.001$  соответственно (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони). Проанализировано по **288 микрокультур для каждой точки данных.**

Впервые показано, что однократное воздействие  $\gamma$ -излучения в дозе 3 сГр на фибробласты легких эмбриона человека ФЛЭЧ-104 на ранних пассажах приводит к отдаленной стимуляции пролиферации потомков облученных клеток через 31-37 суток. При этом общие изменения динамики пролиферации в результате облучения в малых дозах (3 и 5 сГр) оказались более выраженными, чем в результате облучения в высокой дозе (2 Гр).

## **Тема: «Влияние ионизирующего излучения в малых дозах на пролиферативный потенциал эмбриональных фибробластов человека «in vitro»**

**Цель:** поиск механизмов нового феномена радиационно-индуцированного замедления клеточного старения. Кроме того, в исследовании поставлена задача проанализировать, не приводит ли радиационно-индуцированная стимуляция пролиферации к ускорению истощения пролиферативного потенциала и раннему наступлению клеточного старения.

### **Методы:**

1. Облучение ФЛЭЧ-104 в дозах 0 (имитация облучения), 1, 3, 5, 9, 12, 15, 20, 50 сГр, а так же 1, 2 и 6 Гр (в различных комбинациях в разных экспериментах), с использованием устройства «Theratron Equinox» (Best Theratronics Ltd, Канада).
2. Долю стареющих клеток оценивали с помощью окрашивания X-gal.
3. Световая микроскопия (простой подсчет динамики пролиферации клеток) с помощью микроскопа БИОЛАМ П1 («ЛОМО», Россия).
4. FMCA - флуориметрический анализ цитотоксичности в микрокультурах (верификация динамики пролиферации клеток).
5. ИФА - иммуноферментный анализ общего уровня и уровня фосфорилированной формы белков ERK1 и ERK2.
6. Ингибирование сигнальных каскадов MAPK/ERK (U0126) и PI3K/AKT/mTOR (LY294002) как вместе, так и по отдельности.
7. ОТ-ПЦР (оценивали экспрессию генов p21 и p19).
8. Метод ДНК-комет в щелочной модификации.

## Основные публикации лаборатории радиоэкологии животных за 2015-2017 гг.

### *Публикации*

Монографии (раздел), изданные за рубежом – 1

Учебники, учебные пособия – 1

Статьи в рецензируемых журналах ВАКа – 28 (из них  
WoS, Scopus - 16)

Статьи в прочих научных журналах – 2

### *Гранты*

РФФИ – 2 (руководство – 2)

УрО РАН – 2 (руководство – 1)

Президентский грант – 1 (руководство – 1)

Стипендия Правительства Республики Коми – 1

Договоры о сотрудничестве с другими организациями – 2





**спасибо за внимание!**