

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОПРОТЕКТОРОВ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Омельчук Н.Н.¹,
Симаков Ю.Г.²,
Волкова Л.В.³,
Попадюк В.И.¹,
Анисимова О.В.¹,
Хилько Т.Н.¹,
Чернова О.Э.¹

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Россия)

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского» (109004, г. Москва, ул. Земляной Вал, 73, Россия)

³ НОЧУ ВО «Московский финансово-промышленный университет «Синергия» (125190, г. Москва, Ленинградский просп., 80Г, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Омельчук Надежда Николаевна,
e-mail: kklid-fpkmr-nom@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Радиобиологические исследования, посвящённые химическим радиопротекторам, являются актуальными при исследовании радиационных поражений и в практической медицине при лучевой терапии онкологических пациентов. Подбор оптимальной экспериментальной модели необходим для оценки влияния радиопротекторов на гемопоэз и является важной задачей.

Цель исследования. Анализ возможности применения рыб *Danio rerio* как тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста.

Материал и методы. Работа проведена на аквариумных рыбах *Danio rerio*. Семь групп двухмесячной молоди рыб *Danio* ($n = 35$), а также взрослые рыбы подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозах 0 Гр (контроль), 1,0 Гр, 2,0 Гр, 3,0 Гр, 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр для определения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови через 72 часа после облучения.

Результаты. Значения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах *Danio rerio* носили дозозависимый характер. У молоди, как и у взрослых рыб, увеличение дозы ионизирующего облучения до 4 Гр приводило к резкому увеличению частоты встречаемости микроядер в эритроцитах. Взрослые *Danio rerio* были более радиорезистентными: количество образующихся в эритроцитах микроядер у двухмесячной молоди превосходило частоту встречаемости микроядер у взрослых рыб.

Заключение. Модель с использованием молоди рыб *Danio rerio* как лабораторного тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста может быть рекомендована для апробации действия медицинских препаратов при поражениях радиацией, а также при оценке возможности их применения при лучевой терапии у онкологических больных.

Ключевые слова: радиобиология, биоиндикация радиопротекторов, ионизирующая радиация, *in vivo* модели, рыбы *Danio rerio*, микроядерный тест в эритроцитах

Статья поступила: 03.04.2024

Статья принята: 12.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

Для цитирования: Омельчук Н.Н., Симаков Ю.Г., Волкова Л.В., Попадюк В.И., Анисимова О.В., Хилько Т.Н., Чернова О.Э. Экспериментальная модель для оценки эффективности радиопротекторов в биомедицинских исследованиях. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 159-167. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.17

EXPERIMENTAL MODEL FOR ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF RADIOPROTECTORS IN BIOMEDICAL RESEARCH

Omelchuk N.N.¹,
Simakov Yu.G.²,
Volkova L.V.³,
Popadyuk V.I.¹,
Anisimova O.V.¹,
Khilko T.N.¹,
Chernova O.E.¹

¹ Peoples' Friendship University of Russia
(Miklukho-Maklaya str. 6, Moscow 117198,
Russian Federation)

² K.G. Razumovsky Moscow State University
of Technologies and Management
(the First Cossack University)
(Zemlyanoy Val str. 73, Moscow 109004,
Russian Federation)

³ Synergy University
(Leningradsky Ave. 80G, Moscow 125190,
Russian Federation)

Corresponding author:
Nadezhda N. Omelchuk,
e-mail: kklld-fpkmr-nom@mail.ru

ABSTRACT

Background. Radiobiological research on chemical radioprotectors is relevant in the study of radiation injuries and in practical medicine during radiation therapy of cancer patients. Selection of the optimal experimental model is necessary to assess the effect of radioprotectors on hematopoiesis and is an important task.

The aim. Analysis of the possibility of using *Danio rerio* fish as a test object for assessing the effectiveness of the protective effect of radioprotectors against ionizing radiation using an erythrocyte micronucleus test.

Material and methods. The work was carried out on *Danio rerio* aquarium fish. Seven groups of two-month-old zebrafish juveniles ($n = 35$), as well as adult fish, were exposed to X-ray radiation at doses of 0 Gy (control), 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 4.0 Gy, 6.0 Gy, 8.0 Gy to determine the frequency of occurrence of micronuclei in peripheral blood erythrocytes 72 hours after irradiation.

Results. The frequency of occurrence of micronuclei in *Danio rerio* erythrocytes was dose-dependent. In juveniles, as in adult fish, the dose of ionizing radiation increased to 4 Gy led to a sharp increase in the frequency of occurrence of micronuclei in erythrocytes. Adult *Danio rerio* were more radioresistant; the number of micronuclei formed in erythrocytes in two-month-old juveniles exceeded the frequency of occurrence of micronuclei in adult fish.

Conclusion. A model using juvenile fish *Danio rerio* as a laboratory test object for assessing the effectiveness of the protective effect of radioprotectors against ionizing radiation using the erythrocyte micronucleus test can be recommended for testing the effect of medications in case of radiation injuries, as well as for assessing the possibility of their use in radiation therapy in cancer patients.

Key words: radiobiology, bioindication of radioprotectors, ionizing radiation, in vivo models, *Danio rerio* fish, micronucleus test in erythrocytes

Received: 03.04.2024

Accepted: 12.09.2024

Published: 22.11.2024

For citation: Omelchuk N.N., Simakov Yu.G., Volkova L.V., Popadyuk V.I., Anisimova O.V., Khilko T.N., Chernova O.E. Experimental model for assessing the effectiveness of radioprotectors in biomedical research. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 159-167. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.17

ВВЕДЕНИЕ

Медицинские радиобиологические исследования, посвящённые радиорезистентным свойствам противолучевых средств – химических радиопротекторов, являются актуальными как при исследовании радиационных поражений, так и в практической медицине при лучевой терапии онкологических пациентов.

Первым этапом тестирования химических радиопротекторов для оценки их эффективности у человека является изучение влияния этих препаратов на экспериментальных моделях – облучённых животных. Ранее нами проводился цикл экспериментов по определению эффекта химического радиопротектора РС-10 (хитозана битартрата) на животных [1, 2].

Тем не менее, подбор оптимальной экспериментальной модели для медицинского радиобиологического эксперимента по определению влияния радиопротекторов остаётся крайне актуальным, а методика оценки увеличения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови, которое указывает на повышение хромосомных aberrаций при эритропоэзе, представляется надёжной и перспективной. Ранее в радиобиологии в качестве экспериментальных животных наиболее часто использовали млекопитающих, однако в последнее время для создания и изучения лекарственных средств всё больше исследований выполняется на аквариумной рыбе *Danio rerio* [3]. Данио обладает следующими преимуществами по сравнению с другими модельными организмами в радиобиологии: 1) у данио отмечается высокая степень функциональной гомологии генома с геномом млекопитающих, в том числе и с геномом человека [4, 5]; 2) приёмы содержания рыб досконально отработаны, а стоимость одной особи во много раз ниже стоимости мыши или крысы [6–8]; 3) зародыши, мальки рыб и молодые особи *Danio rerio* полностью прозрачны, что позволяет исследовать многие функции, в том числе и с помощью фото- и киносъёмки [9, 10]; 4) большим преимуществом для радиобиологов, работающих в области гидробиологии, является то, что у данио развитие зародышей происходит в икре и отсутствует живорождение, характерное для многих видов аквариумных рыб, при этом у них короткий период раннего онтогенеза, все предшественники основных органов появляются через 24 ч после оплодотворения, и рыбы обычно достигают репродуктивной зрелости в течение 3–6 месяцев после оплодотворения [10, 11]; 5) у данного вида рыб отмечается высокая чувствительность к химическим и физическим мутагенным факторам, к действию ионизирующей радиации [6, 11, 12], что учитывается при скрининге антимикробных соединений, других лекарственных соединений, изучении радиационных воздействий; 6) *Danio rerio* наделены высокой способностью к регенерации органов и тканей – у них возможна регенерация даже значительной части удалённой ткани сердца [13]. Это только часть преимуществ *Danio rerio*, однако для исследований в области радиобиологии самым важным является такое свойство молоди данного вида рыб, как высокая чувствительность процессов клеточной пролифе-

рации к ионизирующему облучению во время эритропоэза, возрастание хромосомных aberrаций в эритроцитах, выявляемых микроядерным тестом.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Анализ возможности применения рыб *Danio rerio* как тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста.

Согласно этой цели была поставлена задача – выбрать наиболее оптимальный режим облучения с учётом возрастных особенностей *Danio rerio* при испытании защитных свойств радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью оценки частоты встречаемости микроядер в эритроцитах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для определения эффективности защитных свойств радиопротекторов различной химической природы на хромосомном уровне проведено исследование с использованием микроядерного теста (МЯТ) на эритроцитах крови лабораторной рыбы (*Danio rerio*), которая широко используется как классический тест-объект при определении генотоксичности веществ и при действии ионизирующего облучения [14]. Применение МЯТ можно считать обоснованным, так как это позволяет выявить интегральное действие радиации на клеточном и хромосомном уровнях и определить степень защиты генома исследуемым протектором. Тест МЯТ на эритроцитах рыб включён в методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов, утверждённые приказом Росрыболовства от 04.08.2009 № 695 и Министерством сельского хозяйства РФ (с дополнениями от 2016 г.) [15], и может обоснованно применяться как при определении генотоксичности веществ, загрязняющих водоёмы, так и для оценки степени защиты от радиационного поражения клеточного и хромосомного аппарата радиопротекторами. Микроядерный тест широко используется и в биомедицинских исследованиях [16, 17]. В работе использовались пресноводные аквариумные рыбы *Danio rerio* мужского и женского пола. Для исследования одной дозы облучения брали 5 особей двухмесячной молоди без дифференцировки по половому признаку и 7 групп взрослых рыб по 5 особей в каждой, совместно самцов и самок (два самца и три самки). Объём воды в каждом аквариуме составлял 3 литра. Кормление рыб осуществлялось французским кормом «Esturgeon» с размером гранул 200–300 микрон. Для определения встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови молодь данио ($n = 35$) и взрослых рыб подвергали воздействию рентгеновского излучения. Облучение проводили с использованием рентгеновского аппарата «РУМ-17» (Россия) с мощностью 0,33 Гр/мин. В контроле особи не об-

лучались, но с ними проводились все те же манипуляции, кроме облучения. Взрослые и молодь данио получили следующие дозы облучения: 0 Гр (контроль); 1,0 Гр; 2,0 Гр; 3,0 Гр; 4,0 Гр; 6,0 Гр; 8,0 Гр. Группы рыб под номерами 5 и 6 были облучены дозами 6 Гр и 8 Гр соответственно. Рыбы облучались в чашках Петри в тонком слое воды и возвращались обратно в свои аквариумы. Кровь брали через 72 часа после облучения путём отрезания хвостового стебля, что давало возможность получить небольшую каплю крови; готовили мазок на предметном стекле, который фиксировали смесью Никифорова (этанол – эфир 1:1) в течение 30 мин, а затем окрашивали азур II-эозином по Романовскому [18]. Для соблюдения биоэтики перед отрезанием хвостового плавника рыбам ножницами мгновенно отрезалась голова до уровня жаберного аппарата. Указанная методика позволяла избежать кровопотери и без того малого количества крови в организме молоди рыб. Из крови рыб, получивших одинаковую дозу облучения, изготавливали препараты, которые исследовали на частоту встречаемости микроядер в эритроцитах (на одном препарате подсчитывали частоту образования микроядер в 600 клетках), а в препаратах крови при одной дозе облучения определяли частоту встречаемости микроядер при обчёте 3000 клеток. Спектр доз облучения подобран так, что в него входили как недействующие дозы, применённые в группе взрослых рыб, так и дозы облучения, дающие статистически значимую разницу с контролем. Вычисляли среднее значение частоты встречаемости микроядер при каждой дозе облучения.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы MS Excel 2010 (Microsoft Corp., США). Данные по оценке микроядер включали по 3000 клеток на каждую дозу облучения во всех трёх группах: 1) контроль; 2) группа, состоящая из взрослых

рыб *Danio rerio*; 3) группа, включающая молодь *Danio rerio*. Результаты МЯТ носят дозозависимый характер, выборки являются репрезентативными [19]. С учётом нормальности распределения результатов МЯТ, чему соответствует большинство морфологических показателей [20], и объёма исследованных выборок, вычисляли значения среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (SEM, standard error of the mean). Статистическую значимость различий между сравниваемыми группами определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003. Исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (выписка из протокола № 27 от 18.04.2024).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препараты, на которых проводился обсчёт клеток с микроядрами у молоди рыб в контроле при облучении дозами 3 и 4 Гр, представлены на рисунке 1. На контрольных препаратах в поле зрения микроскопа можно выявить 1–2 эритроцита, содержащих микроядра. Частота встречаемости микроядер у взрослых данио (0,45‰) и молоди рыб (0,48‰) была достаточно низкой (рис. 1а). В группах молоди рыб при воздействии рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр имело место резкое снижение частоты

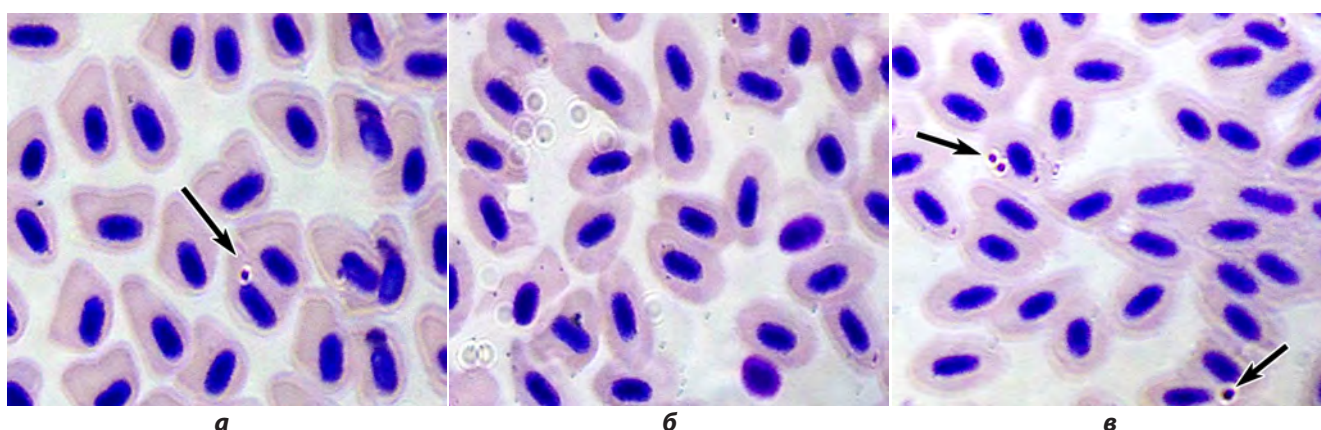


РИС. 1. Эритроциты в периферической крови молоди рыб *Danio rerio* в контроле (а) и через 72 часа после облучения в дозах 3 Гр (б) и 4 Гр (в): а – контроль; б – ингибирование образования микроядер после воздействия рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр; в – повышение частоты встречаемости микроядер после облучения в дозе 4 Гр; микроядра обозначены стрелками. Окраска азур II-эозином по Романовскому, ув. × 1500

FIG. 1. Erythrocytes in the peripheral blood of juvenile fish *Danio rerio* in the control (а) and 72 hours after irradiation in doses of 3 Gy (б) and 4 Gy (в): а – control; б – inhibition of the formation of micronuclei after exposure to X-rays at a dose of 3 Gy; в – increase in the frequency of occurrence of micronuclei after irradiation at a dose of 4 Gy; micronuclei are indicated by arrows. Staining with Azure II-eosin by Romanovsky, magnification ×1500

ты встречаемости микроядер в эритроцитах – до 0,25 ‰, поэтому на препарате редко можно было встретить эритроцит с микроядром (рис. 1б); при дозе 4 Гр микроядер было больше, чем в контроле, и их частота доходила до 1,33 ‰ (рис. 1в).

Частота встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови разных групп рыб *Danio rerio* – в контроле (0 Гр) и при облучении 2,0 Гр, 3,0 Гр, 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр представлена в таблице 1. Статистически значимые различия частоты встречаемости микроядер по сравнению с контролем найдены в группах рыб, облучённых дозами 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при дозе рентгеновского излучения 2 Гр как у взрослых рыб, так и у молоди отмечается падение частоты встречаемости в крови эритроцитов с микроядрами по сравнению с контролем. Увеличение дозы облучения до 3 Гр по-разному сказывается на образовании микроядер при эритропоэзе у взрослых рыб и у молоди. У половозрелых самцов и самок начинает возрастать количество эритроцитов с микроядрами, в то время как у молоди рыб частота встречаемости микроядер в эритроцитах продолжает падать и при 3 Гр достигает минимума (0,25 ‰). Увеличение дозы ионизирующего облучения до 4 Гр приводит к резкому подъёму частоты встречаемости микроядер в эритроцитах как у взрослых рыб, так и у молоди, причём частота встречаемости образующихся в эритроцитах микроядер у двухмесячной молоди рыб превосходит таковую у взрослых рыб. Начиная с дозы облучения 4 Гр частота встречаемости микроядер в эритроцитах у молоди

и у взрослых рыб начинает выходить на плато. Кривые, отражающие зависимость частоты встречаемости микроядер от дозы ионизирующего излучения, представлены на рисунке 2.

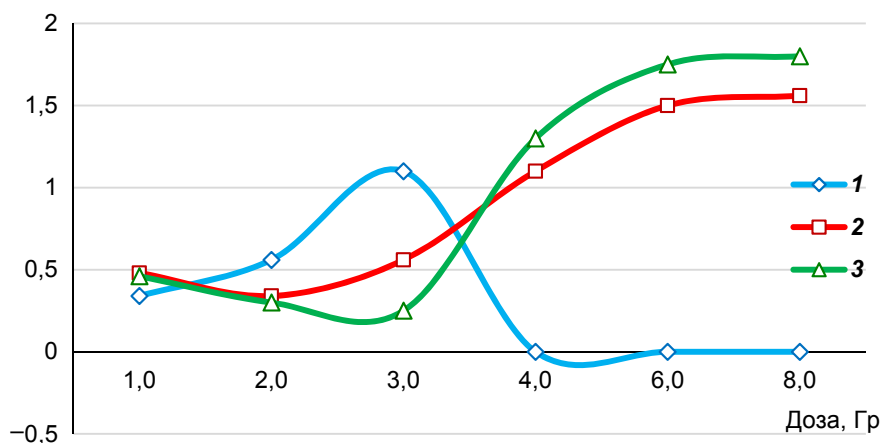
Микроядерный тест представляет собой тест-систему для определения мутагенности, используемую для обнаружения химических веществ и ионизирующего излучения, которые индуцируют образование мелких цитоплазматических фрагментов ДНК, затем они формируются в микроядра, расположенные в цитоплазме клетки. Микроядра в сущности позволяют выявлять мутации на хромосомном уровне и являются маркерами воздействия мутагенных факторов, связанных с разрывом хромосом [4]. В последние годы появляется всё больше работ, связанных с воздействием ионизирующего излучения и оценкой в МЯТ, в которых в качестве модельной тест-системы для оценки мутагенного воздействия рентгеновского излучения и γ -лучей, а также для изучения радиопротекторов предлагается использовать аквариумную рыбу *Danio rerio*. Чаще всего подобные работы проводятся на половозрелых взрослых рыбах, однако появились исследования и на данию, находящихся на эмбриональных стадиях развития [22]. Методика, предлагаемая в настоящей статье, является моделью для испытания радиопротекторов на молоди рыб, занимающей промежуточное положение в онтогенезе. Дозировку радиопротекторов на эмбриональных стадиях развития рыб можно осуществлять только путём внесения требуемых концентраций в воду. Однако точную дозу протектора можно ввести только путём инъекции или через пищеварительную систему. Инъекции

ТАБЛИЦА 1
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ МИКРОЯДЕР
В ЭРИТРОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ РЫБ
DANIO RERIO ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ
РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

TABLE 1
FREQUENCY OF OCCURRENCE OF MICRONUCLEI
IN PERIPHERAL BLOOD ERYTHROCYTES OF *DANIO RERIO*
FISH AFTER EXPOSURE TO VARIOUS DOSES OF X-RAY
IRRADIATION

№ группы	Доза, Гр	Частота микроядер у взрослых особей (‰), M ± SEM	Критерий достоверности разницы, t_d	Частота микроядер у молоди (‰), M ± SEM	Критерий достоверности разницы, t_d
0	0,0	0,45 ± 0,08	–	0,48 ± 0,06	–
1	1,0	0,48 ± 0,07	2,01	0,46 ± 0,06	0,96
2	2,0	0,34 ± 0,05	4,25	0,30 ± 0,09	5,71
3	3,0	0,56 ± 0,07	1,47	0,25 ± 0,07	3,82
4	4,0	1,10 ± 0,09	стимуляция > 20 %	1,33 ± 0,12	стимуляция > 20 %
5	6,0	1,50 ± 0,16	стимуляция > 20 %	1,75 ± 0,14	стимуляция > 20 %
6	8,0	1,56 ± 0,13	стимуляция > 20 %	1,80 ± 0,10	стимуляция > 20 %

Примечание. Жирным шрифтом выделены результаты воздействия излучения, при которых различия с контролем статистически значимы (при $p \leq 0,05$). Установлено, что при стимуляции биологического показателя $\approx 20\%$ разницы с контролем статистически значима [15].

**РИС. 2.**

Частоты встречаемости микроядер в эритроцитах при различных дозах ионизирующего излучения в группах молоди и взрослых рыб *Danio rerio*: **1** – интенсивность образования микроядер в эритроцитах рыб в контрольной группе рыб, не подвергавшихся облучению; **2** – частота встречаемости микроядер в шести группах взрослых рыб, получающих дозы рентгеновских лучей от 1 до 8 Гр; **3** – частота встречаемости микроядер в шести группах молоди рыб, получающих дозы рентгеновских лучей от 1 до 8 Гр. Кривые построены соответственно линейно-квадратичному уравнению: $y = K_1 \times x^2 - K_2 \times x + K_3$ где y – значение частоты встречаемости микроядер (промилле); x – доза (Гр); K_1 , K_2 и K_3 – числовые коэффициенты, рассчитанные для построения плавных кривых с помощью компьютерной графики (кривых Безье) для молоди и взрослых данлио [21]

FIG. 2.

Frequencies of occurrence of micronuclei in erythrocytes at different doses of ionizing radiation in groups of juvenile and adult fish *Danio rerio*: **1** – intensity of micronuclei formation in erythrocytes in the control group of fish that were not exposed to irradiation; **2** – frequency of occurrence of micronuclei in six groups of adult fish receiving various doses of X-rays from 1 to 8 Gray; **3** – frequency of occurrence of micronuclei in six groups of juvenile fish receiving different doses of X-rays from 1 to 8 Gray. The curves are plotted according to the linear-quadratic equation: $y = K_1 \times x^2 - K_2 \times x + K_3$, where y is the frequency of occurrence of micronuclei (ppm); x is the dose (Gy), K_1 , K_2 and K_3 – numerical coefficients calculated for constructing smooth curves using computer graphics (Bézier curves) for juvenile and adult zebrafish [21]

и введение эмбрионам рыб необходимых доз протекторов пока не осуществимы из-за малых размеров икринок, а используемые для испытания радиопротекторов взрослые рыбы, которым можно ввести необходимую дозу путём инъекции, менее чувствительны к облучению, чем особи на ранних стадиях онтогенеза. В связи с этим мы предлагаем биологическую модель для испытания радиопротекторов на молоди рыб, занимающей промежуточное положение в онтогенезе, когда интенсивность образования микроядер под влиянием ионизирующего излучения ещё высока, но уже появляется возможность инъектировать с помощью микрошприца необходимую дозу протектора. Помимо этого, применяемый в настоящем исследовании микроядерный тест является очень востребованным, так как учёные заинтересованы в оценке способности радиопротекторов предохранять от хромосомных повреждений. Индукция анеуплоидии или хромосомных перестроек в геноме является одной из причин врождённых дефектов, гибели особи и бесплодия животных. Микроядерный тест прост в проведении, а полученные биологические материалы могут храниться длительное время. МЯТ выполняется за короткое время, а при обработке полученных результатов возможно применение автоматических анализирующих систем для подсчёта клеток с микроядрами, что даёт возможность анализировать большие выборки [23].

При проведении экспериментальных работ, описанных в данной статье, выявлена ещё одна особенность, характерная для испытания радиопротекторов на такой модели, как микроядерный тест в эритроцитах *Danio rerio*. Несмотря на то, что МЯТ не позволяет непосредственно оценивать митотическую активность дифференцирующихся эритроцитов, тест даёт возможность косвенно судить об активности деления клеток во время кроветворения. На взрослых рыбах ранее было показано, что рентгеновское облучение в дозе 2 Гр приводит к статистически значимому снижению частоты встречаемости микроядер в эритроцитах. Повышение дозы облучения до 3 Гр приводит к увеличению частоты встречаемости микроядер по сравнению с контролем [4]. Однако в настоящей работе у взрослых рыб *Danio rerio* подобный эффект не выявлен. В нашей работе при рентгеновском облучении молоди рыб отмечено дальнейшее снижение встречаемости микроядер в эритроцитах, которое достигает минимума при дозе 3 Гр. Это может косвенно указывать на снижение митотической активности под влиянием указанной дозы рентгеновского облучения, при этом можно предположить, что в организме снижена митотическая активность клеток и, следовательно, образуется меньше микроядер во время митоза – наиболее чувствительного к ионизирующему излучению периода. Явление снижения митотическо-

го индекса и даже полное подавление пролиферации клеток происходят под влиянием рентгеновского излучения во многих тканях у рыб, амфибий и млекопитающих [24]. Таким образом, предлагаемая нами биологическая модель с использованием молоди *Danio rerio* может быть применена в радиобиологии для испытания защитных свойств радиопротекторов, оказаться перспективной для оценки уменьшения количества хромосомных aberrаций, а также для определения снижения уровня клеточной пролиферации в процессе эритропоэза. Подобные исследования по тестированию радиопротекторов ранее не проводились.

Установили, что низкие значения частот встречаемости микроядер, даже при облучении в дозах более 6 Гр, указывают на высокую радиорезистентность рыб *Danio rerio*. Помимо этого, отмечается стабильность появления микроядер при дозах более 6 Гр; при этом кривая частоты встречаемости микроядер в эритроцитах у взрослых особей и у молоди рыб выходит на плато. Настоящее исследование пока не даёт возможности раскрыть механизм этой закономерности. Однако полученные результаты сопоставимы с показателями, выявленными у других представителей семейства карповых: большого индийского карпа *Catla catla* и золотой рыбки *Carassius auratus* [25]. Форма дозозависимой кривой встречаемости микроядер в эритроцитах облучённых рыб продемонстрировала, что статистически значимые различия частот встречаемости микроядер наблюдаются только при воздействии облучения в дозах 4,0 Гр и более, и это также указывает на высокую радиорезистентность половозрелых рыб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе установили, что у молоди рыб *Danio rerio* радиочувствительность выше, она отличается от аналогичных показателей у взрослых рыб вследствие различного влияния ионизирующего излучения на клеточную пролиферацию в процессе эритропоэза. Вследствие этого двухмесячная молодь *Danio rerio* более перспективна как биологическая модель для определения эффективности защитных свойств радиопротекторов по сравнению со взрослыми особями. Модель с использованием молоди рыб *Danio rerio* как лабораторного тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста может быть рекомендована как начальный этап для апробации действия медицинских препаратов при поражениях радиацией, оценки возможности их применения при лучевой терапии у онкологических больных.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Omelchuk N. Effect of the Rs-10 radioprotector on protein-steroid interaction in irradiated animals with biphasic adrenocortical response to irradiation. *Qubahan Academic Journal (QAJ)*. 2023; 3(4): 70-76. doi: 10.48161/qaj.v3n4a163
2. Omelchuk NN. Significance of corticosteroids binding to blood plasma proteins in the mechanism of the RS-10 radioprotector affecting the function of the adrenal cortex. *Gac Méd Caracas*. 2023; 131(3): 603-611. doi: 10.47307/GMC.2023.131.3.12
3. Hernández-Silva D, Alcaraz-Pérez F, Pérez-Sánchez H, Cayuela ML. Virtual screening and zebrafish models in tandem, for drug discovery and development. *Expert Opin Drug Discov*. 2023; 18(8): 903-915. doi: 10.1080/17460441.2022.2147503
4. Ливанова А.А., Завирский А.В., Кравцов В.Ю. *Danio rerio* как экспериментальная модель в радиобиологии. *Радиационная биология, радиоэкология*. 2020; 60(2): 163-174. [Livanova AA, Zavrisky AV, Kravtsov VYu. *Danio rerio* as an experimental model in radiobiology. *Radiation Biology, Radioecology*. 2020; 60(2): 163-174. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0869803120020095
5. Dash SN, Patnaik L. Flight for fish in drug discovery: A review of zebrafish-based screening of molecules. *Biol Lett*. 2023; 19(8): 20220541. doi: 10.1098/rsbl.2022.0541
6. Cahill T, da Silveira WA, Renaud L, Williamson T, Wang H, Chung D, et al. Induced torpor as a countermeasure for low dose radiation exposure in a zebrafish model. *Cells*. 2021; 10(4): 906. doi: 10.3390/cells10040906
7. Есин Т.А. Определение некоторых характеристик *Danio rerio* как *in vivo* модели для радиобиологических исследований. *FORCIPE*. 2020; (2): 544-545. [Esin TA. Determining some characteristics of *Danio rerio* as an *in vivo* model for radiobiological research. *FORCIPE*. 2020; (2): 544-545. (In Russ.)].
8. Valcarce DG, Sellés-Egea A, Riesco MF, De Garnica MG, Martínez-Fernández B, Herráez MP, et al. Early stress exposure on zebrafish development: Effects on survival, malformations and molecular alterations. *Fish Physiol Biochem*. 2024; 50(4): 1545-1562. doi: 10.1007/s10695-024-01355-0
9. Choi TY, Choi TI, Lee YR, Choe SK, Kim CH. Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Exp Mol Med*. 2021; 53(3): 310-317. doi: 10.1038/s12276-021-00571-5
10. Hoo JY, Kumari Y, Shaikh MF, Hue SM, Goh BH. Zebrafish: A versatile animal model for fertility research. *BioMed Res Int*. 2016; 2016: 9732780. doi: 10.1155/2016/9732780
11. Habjan E, Schouten GK, Speer A, van Ulsen P, Bitter W. Diving into drug-screening: Zebrafish embryos as an *in vivo* platform for antimicrobial drug discovery and assessment. *FEMS Microbiol Rev*. 2024; 48(3): fuae011. doi: 10.1093/femsre/fuae011
12. Lubin A, Otterstrom J, Hoade Y, Bjedov I, Stead E, Whelan M, et al. A versatile, automated and high-throughput drug screening platform for zebrafish embryos. *Biol Open*. 2021; 10(9): bio058513. doi: 10.1242/bio.058513
13. Качанов Д.А., Лакеенков Н.М. *Danio rerio* (zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях. *FORCIPE*. 2018; 1(1): 49-54. [Kachanov DA, La-

keenkov NM. *Danio rerio* (zebrafish) – an universal model object in preclinical studies. *FORCIPE*. 2018; 1(1): 49-54. (In Russ.).

14. Смородинская С.В., Симаков Ю.Г. Изменение структуры ДНК и морфологии ядер эритроцитов *Danio rerio* при загрязнении водной среды бихромата калия. *Питание 2035. Физиология, биофизика и биотехнология: Сборник материалов научно-практической конференции*. Тамбов; 2019: 110-115. [Smorodinskaya SV, Simakov YuG. Changes in the DNA structure and morphology of the nuclei of *Danio rerio* erythrocytes when the aquatic environment is polluted with potassium dichromate. *Nutrition 2035. Physiology, Biophysics and Biotechnology: Proceedings of the Research and Practical Conference*. Tambov; 2019: 110-115. (In Russ.).]

15. Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.; 2009. [Methodological guidelines for the development of water quality standards for fishery waters, including standards for maximum permissible concentrations of harmful substances in the fishery waters. Moscow; 2009. (In Russ.).]

16. Булгакова Я.В., Дорохов Е.В., Косолапова И.В., Мануковская О.В. Микроядерный тест буккального эпителия как метод скрининга в онкологии. *Вестник Авиценны*. 2018; 20(1): 47-51. [Bulgakova YaV, Dorokhov EV, Kosolapova IV, Manukovskaya OV. Micronuclear test of the buccal epithelium as the screening method in oncology. *Avicenna Bulletin*. 2018; 20(1): 47-51. (In Russ.).] doi: 10.25005/2074-0581-2018-20-1-47-51

17. Зверева Д.Е. Использование микроядерного теста при оценке генотоксических свойств лекарственных веществ. *Вестник молодых ученых и специалистов Челябинской области*. 2019; 2(25): 10-20. [Zvereva DE. Application of micronucleus test for evaluation of genotoxic properties of drugs. *Vestnik molo-dykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti*. 2019; 2(25): 10-20. (In Russ.).]

18. Мавликеев М.О., Киясов А.П., Деев Р.В., Чернова О.М., Емелин А.М. *Гистологическая техника в патоморфологической лаборатории*. М.: Практическая медицина; 2023. [Mavlikeev MO, Kiyasov AP, Deev RV, Chernova OM, Emelin AM. *Histological technique in the pathology laboratory*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2023. (In Russ.).]

19. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. *Микроядерный тест на клетках*

млекопитающих in vitro: Межгосударственный стандарт ГОСТ 32635. М.: Стандартинформ; 2020. [Test methods for the effects of chemical products on the human body. *Micronucleus test on mammalian cells in vitro: Interstate standard GOST 32635*. Moscow: Standartiiform; 2020. (In Russ.).]

20. Автандилов Г.Г. *Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии*. М.: РМАПО; 1996. [Avtandilov GG. *Computer microtelephotometry in diagnostic histocytology*. Moscow: Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 1996. (In Russ.).]

21. Утемисова А.А., Романов П.Ю. Некоторые методы построения кривых Безье. *Математическое и программное обеспечение систем в промышленности и социальных сферах*. 2018; 6(1): 20-24. [Utemisova AA, Romanov PYu. Some methods for constructing Bézier curves. *Software of Systems in the Industrial and Social Fields*. 2018; 6(1): 20-24. (In Russ.).] doi: 10.18503/2306-2053-2018-6-1-20-24

22. Исаев Д.А., Гурьев Д.В., Блохина Т.М., Яшкина Т.И., Осипов А.Н. Эмбриологические и тератологические эффекты излучения у рыб (*Danio rerio*). *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2020; 65(6): 11-16. [Isaev DA, Guryev DV, Blokhina TM, Yashkina TI, Osipov AN. Embryotoxic and teratogenic effects of gamma radiation on zebrafish (*Danio rerio*). *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020; 65(6): 11-16. (In Russ.).] doi: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-11-16

23. Ting Goh VS, Fujishima Y, Nakayama R, Takebayashi K, Yoshida MA, Kasai K, et al. Manual scoring with shortened 48 h cytokinesis-block micronucleus assay feasible for triage in the event of a mass-casualty radiation accident. *Radiat Res*. 2023; 199(4): 385-395. doi: 10.1667/RADE-22-00191.1

24. Маркина Т.Н., Аклевев А.В., Веремеева Г.А. Пролиферационная активность и клеточный цикл лимфоцитов периферической крови (ЛПК) человека и отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия. *Радиация и риск*. 2011; 20(1): 40-57. [Markina TN, Akleyev AV, Veremeyeva GA. Proliferative activity and cell cycle of peripheral blood lymphocytes (PBL) at late time after chronic radiation exposure in man. *Radiation and Risk*. 2011; 20(1): 40-57. (In Russ.).]

25. Anbumani S, Mohankumar MN. Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. *Aquat Toxicol*. 2012; 122-123: 125-132. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.06.001

Сведения об авторах

Омельчук Надежда Николаевна – заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: kkl-d-fpkmr-nom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9184-0237>

Симаков Юрий Георгиевич – доктор биологических наук, профессор кафедры биологии, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского», e-mail: usimakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-1664-9426>

Волкова Лариса Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин медицинского факультета, НОЧУ ВО «Московский финансово-промышленный университет «Синергия», e-mail: volkova16@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

Попадюк Валентин Иванович – доктор медицинских наук, декан факультета непрерывного медицинского образования медицинского института, профессор, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: popadyuk-vi@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3309-4683>

Анисимова Ольга Викторовна – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: olga-210986@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-4948-5130>

Хилько Татьяна Николаевна – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: tanuakhilko@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-0004-9096>

Чернова Ольга Эдгаровна – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: ochernova2007@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-8160-6486>

Information about the authors

Nadezhda N. Omelchuk – Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: kklld-fpkmr-nom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9184-0237>

Yuri G. Simakov – Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Biology, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management (the First Cossack University), e-mail: usimakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-1664-9426>

Larisa V. Volkova – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Biomedicine, Faculty of Medicine, Synergy University, e-mail: volkovalr16@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

Valentin I. Popadyuk – Dr. Sc. (Med.), Professor, Dean of the Faculty of Continuing Medical Education, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: popadyuk-vi@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3309-4683>

Olga V. Anisimova – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: olga-210986@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-4948-5130>

Tatyana N. Khilko – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: tanuakhilko@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-0004-9096>

Olga E. Chernova – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: ochernova2007@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-8160-6486>