

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ УСКОРЕННЫМИ ПРОТОНАМИ

С.К. Сахарова^{1,2,*}, Ю.С. Северюхин^{1,2}, И.А Колесникова^{1,2}, К.Н. Голикова², Е.В. Пронских^{1,2}, Д.М. Утина², А.Г. Молоканов²

¹ Государственный университет «Дубна», г. Дубна, Россия

² Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

e-mail: sofya.saxarova@mail.ru

Изучение нейробиологических эффектов ускоренных протонов является важной задачей медицинской и космической радиационной биологии. Протонное облучение, возникающее, в частности, при солнечных протонных событиях, может приводить к нейрофизиологическим, гормональным и морфологическим изменениям, а также к сдвигам в составе кишечной микробиоты. Понимание взаимосвязи этих процессов с нарушениями психоэмоциональных реакций необходимо для разработки эффективных профилактических стратегий при радиационно-индуцированных повреждениях.

В работе оценивались поведенческие реакции крыс линии Sprague Dawley, включая обучение, пространственную память, уровень тревожности и исследовательскую активность. Животные подвергались общему протонному облучению в дозе 3 Гр. Образцы тканей головного мозга и тонкого кишечника отбирались в различные сроки после воздействия для гистологического и иммуногистохимического анализа.

В отдалённом периоде после облучения отмечалось снижение эффективности пространственного обучения и изменение стратегий навигации в водном лабиринте Морриса при сохранности долговременной памяти.

Гистологический анализ выявил выраженную апоптотическую реакцию в кишечной ткани в ранние сроки после воздействия. Иммуногистохимическое исследование показало транзитное повышение уровня зонулина в ранний период с последующим значимым увеличением на 90-е сутки, что свидетельствует о стойком нарушении барьерной функции кишечника.

В отдалённом периоде также наблюдались структурные изменения слизистой оболочки, указывающие на процессы тканевого ремоделирования.

Таким образом, протонное облучение приводит к поведенческим изменениям, сопровождающимся нарушением барьерной функции кишечника, что может косвенно свидетельствовать о вовлечении оси «мозг–кишечник» в формирование радиационно-индуцированных эффектов.

показателю ФИД (Фактор Изменения Дозы определяется отношением дозы, вызывающей определённый эффект в присутствии радиопротектора, к дозе в его отсутствии) = 1.7 [1]. С тех пор были предприняты попытки усилить радиопротекторный эффект добавлением к молекуле Hoechst 33342 групп, богатых электронами, предполагая, что повышение электронной плотности около молекулы ДНК способствует её защите. В результате был синтезирован ряд соединений, среди которых, например, Метилпроамин [2].

Как и все бензимидазолы, он обладает высокой аффинностью связывания с ДНК, константа диссоциации $K_{dis} \approx 100$ нМ. Он связывается с ДНК в малой бороздке в областях, содержащих последовательные 3-4 АТ пары. В дальнейшем это было подтверждено рентгеноструктурной кристаллографией комплекса Метилпроамин/ДНК [3].

Для объяснения защитного механизма Метилпроамина была выдвинута гипотеза о том, что при возникновении короткоживущего первичного повреждения в структуре ДНК (радикала) происходит миграция заряда от связанного с ДНК радиопротектора к повреждению с последующим восстановлением исходной структуры молекулы. Перенос электрона наблюдался в экспериментах по импульсному радиолизу комплекса Метилпроамин/ДНК [4]. Там же было оценено расстояние миграции 31 пара оснований.

В рамках нашей работы предложена модель для определения радиуса защиты (расстояния миграции). Предложенный в модели алгоритм симулирует процесс случайного заполнения специфических сайтов связывания на ДНК молекулами радиопротектора на основе известной последовательности нуклеотидов ДНК. В ходе работы алгоритма определяются потенциальные сайты связывания (3-4 АТ пары) и индексы их первых пар, которые записываются в массив, из которого затем они случайно выбираются для заполнения. Модель также содержит свободный параметр R – радиус защиты ($2R$ – зона защиты, в пределах которой заряд может мигрировать). На выходе программа выдаёт значения доли занятых сайтов и степени защиты. Степень защиты определяется из соотношения $PP(F_{os}) = \frac{N_{prot}(R)}{N_0}$, где $N_{prot}(R)$ – количество попадающих в зону защиты нуклеотидов, N_0 – общее число нуклеотидов в последовательности, F_{os} – доля занятых протектором сайтов.

Модель была применена для интерпретации экспериментальных данных по защите плазмидной ДНК pBR322 от образования повреждений оснований (8-охо гуанина) после облучения гамма-квантами ^{60}Co в присутствии различных концентрация ДНК связывающегося радиопротектора. Данный тип повреждений регистрируется с помощью плазмидной модели с применением фермента формамидопиримидин-N-гликозилазы, который преобразует поврежденное основание в односторонний разрыв. Степень защиты в эксперименте рассчитывалась по формуле $PP = \frac{Y_0 - Y}{Y_0}$, где Y_0 – выход повреждений оснований в контроле, Y – выход в присутствии радиопротектора. Результат работы программы отображен графически на рис.1. в виде зависимости степени защиты PP от доли защищённых сайтов F_{os} . Здесь же приведены данные, полученные в ходе эксперимента по измерению выхода повреждений в плазмидной ДНК после облучения и обработки ферментом.

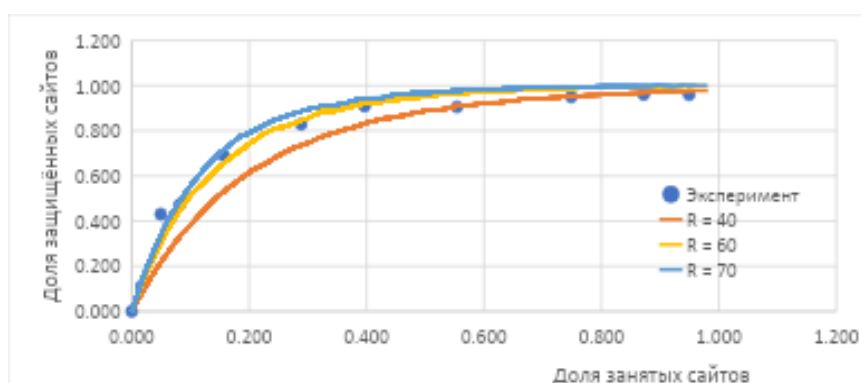


Рисунок 1. Зависимости степени защиты PP от дольа защищённых сайтов F_{os} .

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что наилучшее соответствие эксперименту достигается при значении радиуса $R = 60$ пар оснований.

Литература

1. Young, S. D. & Hill, R. P. 1989, British Journal of Cancer, Vol. 60, No. 5, pp. 715-721
2. Roger F. M., et al, CANCER RESEARCH 64, 1067–1070, February 1, 2004
3. Lobachevsky, et al. Int. J. Radiat. Biol., Vol. 87, No. 3, March 2011, pp. 274–283
4. Martin, Anderson, Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol. 42, No. 4, pp. 827–831, 1998