

ВЛИЯНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО И ГРУППОВОГО СОДЕРЖАНИЯ МЫШЕЙ НА УРОВЕНЬ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

О. В. Дорожжина — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, инженер, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, лаборант-исследователь; **Т. М. Булынина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, младший научный сотрудник, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, лаборант-исследователь; **А. А. Иванов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией радиационной иммунологии и экспериментальной терапии радиационных поражений, Объединенный институт ядерных исследований, ведущий научный сотрудник, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, заведующий лабораторией радиобиологии тяжелых ионов, профессор, доктор медицинских наук.

EFFECT OF INDIVIDUAL AND GROUP HOUSING OF MICE ON THE LEVEL OF RADIORESISTANCE

O. V. Dorozhkina — Russian Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Engineer, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Laboratory Research Assistant; **T. M. Bulynina** — Russian Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Junior Scientific Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Laboratory Research Assistant; **A. A. Ivanov** — Russian Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of the Laboratory of radiation immunology and experimental therapy of radiation injuries, Joint Institute for Nuclear Research, Leading Scientific Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of radiobiology of heavy ions, Professor, Doctor of Medical Sciences.

Дата поступления — 7.12.2015 г.

Дата принятия в печать — 18.12.2015 г.

Дорожжина О. В., Булынина Т. М., Иванов А. А. Влияние индивидуального и группового содержания мышей на уровень радиорезистентности. Саратовский научно-медицинский журнал 2015; 11 (4): 653–656.

Цель: изучение влияния индивидуального и группового содержания мышей на радиорезистентность. **Материал и методы.** Исследовано влияние группового и индивидуального содержания аутобредных мышей-самцов ICR (CD-1) и инбредных C57Bl6 на показатели системы крови и иммунитета до и после протонного облучения. **Результаты.** Групповое содержание интактных животных привело к снижению числа кардиоцитов в костном мозге и массы тимуса. Облучение мышей протонами с энергией 171 МэВ в дозе 1 Гр вызывает статистически значимое большее снижение клеток костного мозга при групповом содержании по сравнению с индивидуальным. При индивидуальном содержании облученных животных отмечена тенденция к большей сохранности числа лейкоцитов в периферической крови и более высокой пролиферативной активности клеток костного мозга, а также к снижению уровня aberrантных митозов по сравнению с групповым содержанием. В восстановительном периоде лучевой болезни при групповом содержании мышей восстановительные процессы проходят с большей скоростью. **Выводы.** Групповое содержание мышей-самцов вызывает повышенную чувствительность системы крови и иммунитета к действию радиации и ускоряет процессы пострадиационного восстановления.

Ключевые слова: мыши, ICR (CD-1), C57Bl6, групповое и индивидуальное содержание, протонное облучение, кардиоциты костного мозга, митотический индекс, aberrантные митозы, тимус, селезенка.

Dorozhkina OV, Bulynina TM, Ivanov AA. Effect of individual and group housing of mice on the level of radioresistance. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2015; 11(4): 653–656

Aim: to examine the effect of individual and group housing of mice on radioresistance. **Material and methods.** Effects of individual and group housing of mice on immunity and blood systems were studied on ICR (CD-1) and C57Bl6 male mice before and after proton irradiation. **Results.** Group housing of intact animals resulted in a decline in the number of nucleated cells in the femur bone marrow and thymus mass. The irradiation with proton with energy of 171 MeV at a dose of 1 Gy causes a statistically significant greater reduction of the number of nucleated cells in the femur bone marrow in group-housed mice. A trend toward greater safety of the number of leukocytes in the peripheral blood and higher proliferative activity of bone marrow cells, as well as lower level of aberrant mitoses have been noted in individually-housed mice. Reduction processes in the recovery period of radiation sickness take place at a greater rate in group-housed mice. **Conclusion.** Group housing of male mice causes increased sensitivity of the blood and immunity systems to the effects of radiation and at the same time accelerates processes of radiation recovery.

Key words: mice, ICR (CD-1), C57Bl6, individual and group housing, proton irradiation, number of nucleated cells in the bone marrow, mitotic index, aberrant mitosis, thymus, spleen.

Введение. Трудными патофизиологической научной школы академика П.Д. Горизонтова [1] доказано, что ионизирующее излучение является мощным стрессором для организма млекопитающих. В этой связи взаимодействие различных стрессорных воздействий с радиационным стрессом представляет значительный интерес, поскольку облучение человека в аварийных и особых ситуациях сопровождается физическим и эмоциональным напряжением.

Имеются предположения о том, что важным фактором, влияющим на радиорезистентность, является стрессорное воздействие. За последние годы опубликованы данные, свидетельствующие о том, что как острый, так и хронический стресс индуцируют хромосомные aberrации и модифицируют чувствительность генома к мутагенам различной природы, в том числе и к ионизирующему излучению [2]. В работе [3] было показано, что длительный иммобилизационный стресс приводит к увеличению спонтанного уровня частоты хромосомных aberrаций в ядродержащих клетках костного мозга мышей линии *BALB/C*, а острое гамма-облучение характеризовалось ингибирующим действием на развитие адаптационных и компенсаторных возможностей кроветворной системы.

Известно, что стресс-факторы активизируют гипоталамо-гипофиз-надпочечниковую систему и вызывают различные изменения в органах- и клетках-мишенях для гормонов и других медиаторов стресса. К одной из таких мишеней относится иммунная система и центральная иммунокомпетентная клетка — лимфоцит [4, 5]. При этом наблюдаются активация апоптоза и повышение частоты нарушений генетического аппарата [6–8]. При психоэмоциональном стрессе (длительной изоляции) происходит статистически значимое увеличение частоты ацентриков и aberrаций хроматидного типа в лимфоцитах крови испытуемых [9].

Особый интерес представляет взаимодействие эмоционального и радиационного стресса. В то же время достаточно сложно моделировать эмоциональный хронический стресс на экспериментальных животных. Одним из способов моделирования эмоционального стресса у самцов может быть их групповое содержание [10]: поскольку доминирующий самец оказывает стрессорное влияние на других животных, групповое содержание животных может вызвать снижение уровня тревоги при хроническом стрессе [11].

В доступной литературе мы не встретили данных о влиянии такого стресс-фактора, как групповое содержание на цитогенетический аппарат клетки и уровень радиорезистентности.

Цель: изучение влияния индивидуального и группового содержания мышей на радиорезистентность.

Материал и методы. Исследования осуществлялись на аутбредных мышах ICR (CD-1) — SPF категории, а также инбредных C57Bl6 самцах в возрасте 4–4,5 месяца с массой тела от 28 до 40 грамм. Общее число животных 57 голов, число животных на точку от 4 до 14. В ходе всего эксперимента животные содержались на стандартном рационе питания и в неограниченном доступе к воде. Интактные мыши C57Bl6 содержались в группе или индивидуально в

течение 8 суток, а ICR (CD-1) — 16 суток, при этом число животных в группе было 4–8 голов.

Облучение мышей проводили терапевтическим пучком протонов с энергией 171 МэВ в дозе 1 Гр, созданном на фазотроне ОИЯИ для проведения лучевой терапии пациентов [12]. ЛПЭ протонов-171 МэВ составила 0,49 кэВ/мкм, мощность дозы 0,37 Гр/мин. Группы биоконтроля составили 19 животных.

Эвтаназию животных осуществляли путем цервикальной дислокации через 21–22 часа и на восьмые сутки после облучения.

Подсчет лейкоцитов в периферической крови и определение числа кариоцитов в костном мозге бедренной кости проводили в камере Горяева по стандартной методике [13].

Критериями изменений в клетках костного мозга являлись величина митотического индекса и количество клеток с aberrантными митозами, для анализа которых использовался анафазный метод [14].

Масса тела животных, тимуса и селезенки определялась на электронных весах Zelmer и Ohrus с ценой деления 1,0 г и 1,0 мг соответственно.

Для статистической обработки: подсчета средней арифметической и ошибки средней — использовали программный комплекс Microsoft Office Excel 2010, достоверность различий рассчитывали по критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$. Распределение вариантов соответствовало нормальному.

Все эксперименты над животными проводили с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», регламентированных приказом Министерства здравоохранения СССР №755 от 12.08.1987 г., в том числе по гуманному отношению к ним.

Результаты. Данные, представленные в табл. 1, показывают, что при групповом содержании интактных животных число кариоцитов в костном мозге и масса тимуса оказались сниженными. Наиболее чувствительными к стрессу, как известно, являются лимфоциты тимуса [1], поэтому вполне логичным является снижение массы тимуса.

В табл. 2 представлены данные о показателях системы крови и центральных органов системы иммунитета через 21–22 часа после облучения протонами с энергией 171 МэВ. При групповом содержании мышей масса тимуса оказалась выше по сравнению с индивидуальным. Масса селезенки не различалась в обеих группах. Число кариоцитов в костном мозге мышей, содержащихся индивидуально, статистически значимо было выше по сравнению с данным показателем у мышей группового содержания. Отмечена тенденция к большей сохранности числа лейкоцитов в периферической крови и более высокой пролиферативной активности клеток костного мозга при индивидуальном содержании животных, в то время как уровень aberrантных митозов при групповом содержании был несколько выше.

Влияние различного содержания на восстановление систем крови и иммунитета представлено в табл. 3. При сопоставлении данных табл. 1 и табл. 3 видно, что к восьмым суткам полного восстановления не происходит. Тем не менее, по показателю массы тимуса отмечено опережение восстановления при групповом содержании мышей. По показателям массы селезенки, числа кариоцитов в костном мозге и числа лейкоцитов в периферической крови отмечено достоверное ускорение восстановления. По величине митотического индекса и уровню aberrантных митозов отмечена тенденция более благоприятного

Ответственный автор — Иванов Александр Александрович
Тел.: 8-499-190-96-35; 8-903-159-40-91
E-mail: a1931192@mail.ru

Таблица 1.

Влияние индивидуального и группового содержания интактных мышей C57Bl6 и CD-1 на показатели системы крови и иммунитета ($M \pm m$) на 8–16-е сутки от начала эксперимента

№	Группа	Кол-во мышей	Масса тела, г	Масса тимуса, мг	Масса селезенки, мг	Число кариоцитов в костном мозге	Число лейкоцитов в периферической крови, $\times 10^9/\text{л}$	Митотический индекс, %	Аберрантные митозы, %
1	Индивидуальное содержание, CD-1	8	36,9 ± 1	41,6 ± 2,1	130 ± 7,3*	26,9 ± 1,2*	8,9 ± 0,2*	1,73 ± 0,06	1,63 ± 0,5
2	Групповое содержание, CD-1	7	36,6 ± 0,5	38,6 ± 4,8	174,4 ± 34,2	21,4 ± 1,1	10,4 ± 2,6	1,7 ± 0,05	1,72 ± 0,5
3	Индивидуальное содержание, C57Bl6	4	30 ± 0,1	63,5 ± 5,1	87,5 ± 2	29,9 ± 0,25**	7,25 ± 0,5**	1,93 ± 0,06	1,5 ± 0,47
4	Групповое содержание, C57Bl6	4	27,5 ± 0,2	60 ± 8,9	82 ± 6,7	26,7 ± 0,1	3,3 ± 0,04	1,82 ± 0,05	1,58 ± 0,5

Примечание: статистически значимые различия с группой: * — № 2; ** — № 4.

Таблица 2

Влияние индивидуального и группового содержания мышей C57Bl6 на показатели системы крови и иммунитета ($M \pm m$) через 21–22 часа после облучения протонами с энергией 171 МэВ в дозе 1 Гр

№	Группа	Кол-во мышей	Масса тела, г	Масса тимуса, мг	Масса селезенки, мг	Число кариоцитов в костном мозге	Число лейкоцитов в периферической крови, $\times 10^9/\text{л}$	Митотический индекс, %	Аберрантные митозы, %
1	Индивидуальное содержание	14	28,4 ± 0,6	26,9 ± 1,8	60 ± 2,3	22,8 ± 0,54*	1,6 ± 0,2	1,34 ± 0,3	16,1 ± 1,3
2	Групповое содержание	8	27,9 ± 0,4	32,25 ± 3,5	63,4 ± 2	19,7 ± 1,07	1,46 ± 0,17	1,27 ± 0,3	18,2 ± 1,7

Примечание: статистически значимые различия с группой: * — № 2.

эффекта группового содержания животных. В восстановительном периоде лучевой болезни групповое содержание мышей, в соответствии с нашими данными, оказывает стимулирующее влияние на восстановление кровотока.

Обсуждение. Полученные нами данные указывают на меньшую поражаемость системы кроветворения у мышей при индивидуальном содержании, за исключением центрального органа иммуногенеза и наиболее стресс-чувствительного — тимуса. Однако эти данные статистически недостоверны. Наиболее значимым показателем, отражающим более высокий уровень радиорезистентности при индивидуальном содержании, является число кариоцитов в костном мозге мышей [15, 16].

Результаты наших исследований согласуются с выводами [11] о том, что групповое содержание мышей вызывает снижение уровня тревоги при хроническом стрессе.

В работе [17] показано, что после 120-суточной гипокинезии испытуемых-добровольцев частота ацентрических парных фрагментов увеличилась в 2 раза, а частота ацентриков снизилась, уровень дицентриков и центрических колец не отличался от контрольного.

Таким образом, радиационный стресс вызывает повышение нарушений цитогенетического аппарата клеток (см. табл. 2–3), усиливаемое при групповом содержании животных. Однако следует отметить, что данные, полученные о различиях в группах по показателю уровня аберрантных митозов, оказались статистически недостоверными. Данное обстоятельство указывает на то, что групповое содержание живот-

ных является относительно слабым стрессором по данному показателю.

Заключение. Суммируя все изложенное, следует заключить, что при групповом содержании интактных животных число кариоцитов в костном мозге и масса тимуса оказались сниженными.

Облучение в сублетальной дозе протонного излучения приводит к большему поражению клеток костного мозга при групповом содержании животных по сравнению с индивидуальным, тогда как восстановительные процессы при групповом содержании проходят с большей скоростью.

Таким образом, групповое содержание мышей-самцов вызывает повышенную чувствительность системы крови и иммунитета к действию радиации и в то же время ускоряет процессы пострадиационного восстановления.

Конфликт интересов не заявляется. Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ-ИМБП РАН.

Благодарности. Авторы выражают свою признательность сотрудникам ОИЯИ Ю.С. Северюхину и Д.М. Утиной за техническую помощь при проведении экспериментов и А.Г. Молоканову за осуществление облучения на ускорителе «Фазотрон».

References (Литература)

- Gorizontov PD. Homeostasis. Moscow: Meditsina, 1981; 576 p. Russian (Горизонтов П.Д. Гомеостаз. М.: Медицина, 1981; 576 с.).
- Ingel' FI. Prospects of using micronucleus test on human blood lymphocytes cultured in a block cytokinetic. *Ekologicheskaja genetika* 2006; 4 (4): 38–53. Russian (Ингель Ф. И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. *Экологическая генетика* 2006; 4 (4): 38–53).

3. Muratova MJ, Vorozhtsova SV, Abrosimova AN, et al. The combined influence of immobilization stress and gamma radiation on the hematopoietic system of mice. *Aviakosmicheskaja i ekologicheskaja meditsina* 2001; 35 (5): 22–25. Russian (Muratova M. Ю., Ворожцова С. В., Абросимова А. Н. и др. Сочетанное влияние иммобилизационного стресса и гамма-излучения на кроветворную систему мышей. *Авиакосмическая и экологическая медицина* 2001; 35 (5): 22–25).
4. Daev EV, Surinov BP, Dukel'skaja AV, et al. Effect of chemical signals of stress on chromosome stability and function of lymphoid cells of male laboratory mice. *Tsitologija* 2007; 49 (8): 696–701. Russian (Даев Е. В., Суринов Б. П., Дукельская А. В. и др. Влияние хемосигналов стресса на стабильность хромосомного аппарата и функцию лимфоидных клеток самцов лабораторных мышей. *Цитология* 2007; 49 (8): 696–701).
5. Abramov VV. The interdependence of the immune and nervous systems. *Uspehi sovrem biolog* 1991; 111 (6): 840–844. Russian (Абрамов В. В. Взаимозависимость функционирования иммунной и нервной систем. *Успехи соврем. биол.* 1991; 111 (6): 840–844).
6. Ingel' FI, Gevorkjan NM, Il'jushina NA, et al. Long psycho-emotional stress as an inducer of mutations in mammals and modifier mutagenesis. *Bjull jeksperim biol i mediciny* 1993; (9): 307–309. Russian (Ингель Ф. И., Геворкян Н. М., Ильюшина Н. А. и др. Длительный психоэмоциональный стресс как индуктор мутаций у млекопитающих и модификатор мутагена. *Бюлл. эксперим. биол. и медицины* 1993; (9): 307–309).
7. Djuzhikova NA, Vukovskaja NV, Vajdo AI, et al. The frequency of chromosomal aberrations induced by a single stress exposure, rats were selected on the excitability of the nervous system. *Genetika* 1996; (32): 851–853. Russian (Дюзжикова Н. А., Вывковская Н. В., Вайдо А. И. и др. Частота хромосомных нарушений, индуцированных однократным стрессорным воздействием, у крыс, селекционированных по возбудимости нервной системы. *Генетика* 1996; (32): 851–853).
8. Clem RJ. Apoptosis as a stress response: lessons from an insect virus. In: *Stress-inducible processes in higher eucariotic cells*. New York: Plenum Press, 1997; 109–136.
9. Fedorenko BS, Snigireva GP, Shevchenko VA, et al. Effect of psychological stress on the frequency of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes. In: *Model experiments with prolonged isolation: Challenges and Achievements*. Moscow: Slovo, 2001; p. 525–531. Russian (Федоренко Б. С., Снигирева Г. П., Шевченко В. А. и др. Влияние психологического стресса на частоту aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови человека. В кн.: *Модельный эксперимент с длительной изоляцией: проблемы и достижения*. М.: Слово, 2001; с. 525–531).
10. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Research Council. National Academy Press 2011.
11. Liu X, Wu R, Tai F, et al. Effects of group housing on stress induced emotional and neuroendocrine alteration. *Brain Res* 2013; (1502): 71–80.
12. Molokanov AG. Formation of the proton beam radiotherapy Phasotron JINR. *Voprosy atomnoj nauki i tehniki* 2008; (5): 146. Russian (Молоканов А. Г. Формирование радиотерапевтического протонного пучка фазотрона ЛЯП ОИЯИ. *Вопросы атомной науки и техники* 2008; (5): 146).
13. Mantz JM. Method for the quantitative examination of the bone marrow of white rats. *C. R. Sciences Soc Biol Fil* 1957; 151 (11): 1957–1960.
14. Strzhizhovskij AD. Quantitative estimation of duration of existence of chromosomal aberrations in cells of various mammalian tissues in vivo. *Genetika* 1972; 8 (2): 93–100. Russian (Стржижовский А. Д. Количественная оценка длительности существования хромосомных aberrаций в клетках различных тканей млекопитающих in vivo. *Генетика* 1972; 8 (2): 93–100).
15. Gruzdev GP, Fedotova MI, Shherbova EN. Some regularities of the devastation of the bone marrow in rats affected by gamma radiation. *Radiobiologija* 1984; 3 (3): 389–392. Russian (Груздев Г. П., Федотова М. И., Щербова Е. Н. О некоторых закономерностях опустошения костного мозга у крыс, пораженных гамма-излучением. *Радиобиология* 1984; 3 (3): 389–392).
16. Gruzdev GP. The problem of hematopoietic tissue injury in acute radiation disease. Moscow: Meditsina, 1968; 212 p. Russian (Груздев Г. П. Проблема поражения кроветворной ткани при острой лучевой патологии. М.: Медицина, 1968; 212 с.).
17. Repina LA, Druzhinin SV. Action antiorthostatic prolonged hypokinesia on the frequency of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes. *Vestn. Mezhdunar. un-ta prirody, obshhestva i cheloveka*. Dubna 2001; (2): 43–45. Russian (Репина Л. А., Дружинин С. В. Действие длительной антиортостатической гипокинезии на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови человека. *Вестн. Междунар. ун-та природы, общества и человека*. Дубна 2001; (2): 43–45).

УДК 614.8.086.52

Краткое сообщение

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНЫ «ГРИППОЛ» НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ К ОБЛУЧЕНИЮ ПРОТОНАМИ

А. А. Иванов — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией радиационной иммунологии и экспериментальной терапии радиационных поражений, Объединенный институт ядерных исследований, ведущий научный сотрудник, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, заведующий лабораторией радиобиологии тяжелых ионов, профессор, доктор медицинских наук; **А. Н. Абросимова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, старший научный сотрудник, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; **Т. М. Булынина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, младший научный сотрудник, Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, лаборант-исследователь.

EFFECTS OF THE VACCINE "GRIPPOL" ON RESISTANCE OF MICE AFTER IRRADIATION BY PROTONS

A. A. Ivanov — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of the Laboratory of radiation immunology and experimental therapy of radiation injuries, Joint Institute for Nuclear Research, Leading Scientific Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of radiobiology of heavy ions, Professor, Doctor of Medical Sciences; **A. N. Abrosimova** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Senior Scientific Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Candidate of Biological Sciences; **T. M. Bulynina** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Junior Scientific Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Laboratory Research Assistant.

Дата поступления — 6.12.2015 г.

Дата принятия в печать — 18.12.2015 г.