

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«Восточно-Сибирский институт
медико-экологических исследований»**

**Оценка воздействия дыма
природных пожаров на ЦНС и
репродуктивную функцию белых крыс**

Докладчик:

Андреева Елизавета Сергеевна

*младший научный сотрудник лаборатории
биомоделирования и трансляционной медицины*

Суздаль, 2020

Актуальность исследования

1

Одним из важнейших научных вопросов на современном этапе является изучение последствий воздействия токсикантов, проявляющихся у последующих поколений.

2

Содержание в дыме лесных пожаров значительного количества продуктов неполного сгорания, являющихся потенциальными нейро – и репротоксикантами, определяет необходимость исследования ЦНС и репродуктивной функции.

3

Экспериментальная модель лесного пожара должна воспроизводить условия максимально близкие к натурным - вид субстрата, условия горения т.п. Основным критерием является достижение необходимого уровня загрязнения воздушной среды, близкого к реальным замерам в период задымления.

Цель работы:

- ❖ Изучение состояния репродуктивной и нервной системы белых крыс-самцов, подвергавшихся воздействию дыма природных пожаров различной длительности.



Характеристика экспериментальной модели природного пожара

Диапазон СО: 40 – 98 мг/м³

Диапазон формальдегида:

0,49 – 0,75 мг/м³



Подготовлена заявка на изобретение
«Способ моделирования интоксикации продуктами горения лесного горючего материала»

Город	Концентрация СО
Чита, 2008	3,6 мг/м ³
Москва, 2010	30 мг/м ³
Якутск, 2017	До 15,7 мг/м ³
Братск, 2018	До 25 мг/м ³
Нижний Новгород, 2010	До 20,4 мг/м ³
Диапазон СО	3,6 – 30 мг/м ³

Разработана экспериментальная модель природного пожара:

- ❖ Средняя концентрация СО – 39,5 мг/м³
 - ❖ Средняя концентрация NO – 0,5 мг/м³
 - ❖ Средняя концентрация NO₂ – 0,6 мг/м³
- Формальдегид – 0,18±0,06 мг/м³
(ПДКм.р.=0,05 мг/м³)
- Фурфурол – 0,018±0,002 мг/м³
(ПДКм.р.=0,035 мг/м³)
- Ацетальдегид – 0,65±0,12 мг/м³
(ПДКм.р.=0,01 мг/м³)

Дизайн эксперимента

Моделирование природного пожара

Тип животных - крысы белые беспородные (180 – 240 гр) самцы, самки

Способ воздействия – ингаляционный
В экспозиционных камерах

1 Этап:
1 неделя
по 4 ч в день

2 Этап:
4 недели по 5 дней в
неделю по 4 ч в день

Обследование животных после экспозиции

Спаривание экспонированных самцов с интактными самками

Обследование половозрелого потомства

- тест «открытое поле»;
- водный лабиринт Морриса;
- УРПИ
- гистологическое исследование головного мозга

Используемые методы:

- тест «открытое поле»;
- водный лабиринт Морриса;
- УРПИ
- морфометрия ткани семенников
- гистологическое исследование головного мозга.
- метилирование ДНК (кровь, семенники)

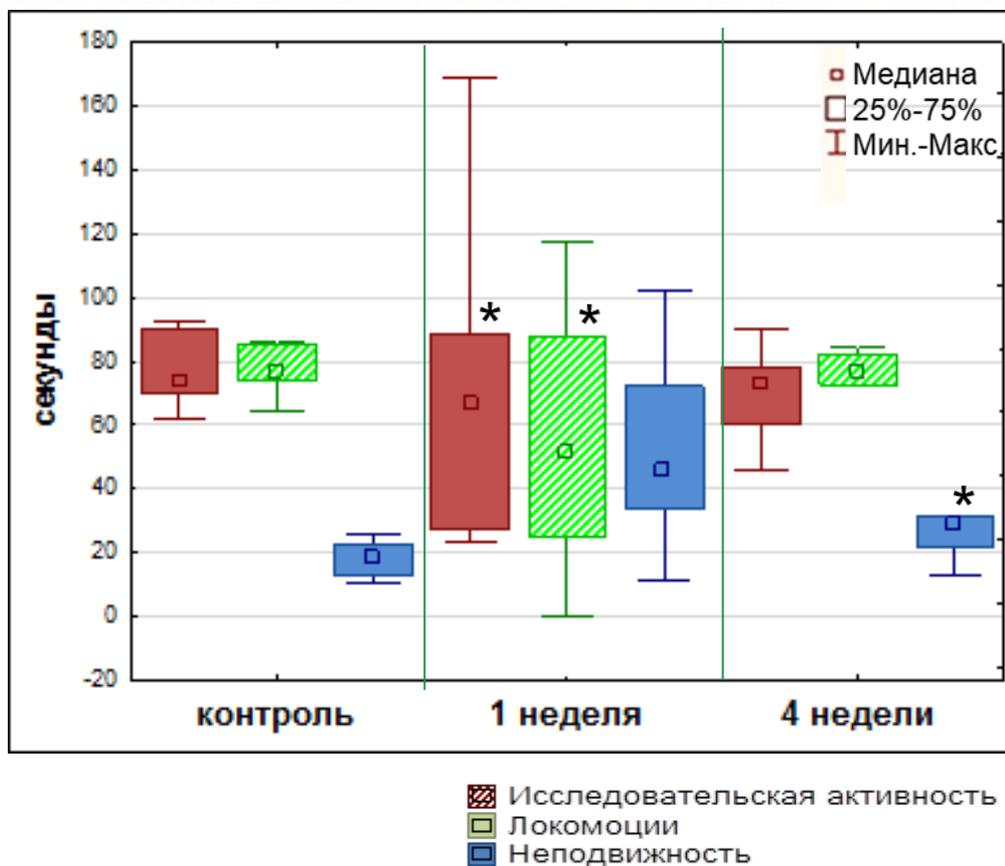


Результаты исследования поведения белых крыс-самцов в тесте «открытое поле»

Изменения в структуре поведения самцов, экспонированных в течение 1 недели, характеризовались снижением двигательной и исследовательской активности.

После более длительной экспозиции продуктами горения в течение 4 недель самцы опытной группы демонстрировали снижение двигательной активности однако нарушения исследовательского поведения выявлено не было.

Вокина В.А., Новиков М.А., Елфимова Т.А., Богомолова Е.С., Алексеенко А.Н., Соседова Л.М. Исследование воздействия эмиссии от лесных пожаров на морфофункциональное состояние центральной нервной системы белых крыс. Гигиена и санитария. 2019; 98(11): 1245-1250. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-11-1245-1250

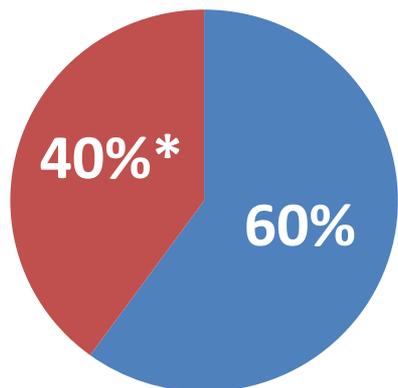


* - различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$

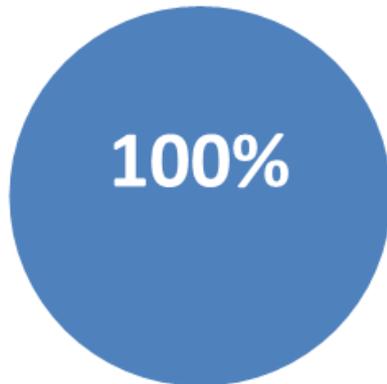
Результаты исследования когнитивных способностей белых крыс-самцов

1 неделя экспозиции

Опыт

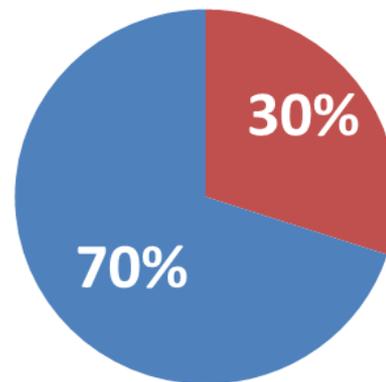


Контроль

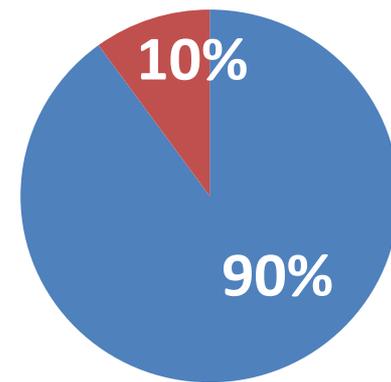


4 недели экспозиции

Опыт



Контроль



■ выполнили тест
■ не выполнили тест

Среди опытных групп экспонированных самцов не справилось с тестом 40-30% особей, в контрольных группах обеих групп животные демонстрировали выполнение теста в 90-100%.

Наблюдалась тенденция к снижению латентного периода поиска скрытой платформы как в течение 1 недели так и в 4 недель экспозиции.

Полученные результаты являются показателем нарушения пространственной памяти и способности к навигационному обучению у крыс вследствие воздействия дыма.

Результаты гистологических исследований ткани коры головного мозга

Показатели	1 неделя	4 недели
Число нормальных нейронов	<u>128(112-130)**</u> 204(202-214)	<u>165,5(143-239)**</u> 268 (249-299)
Число дегенеративно изменённых нейронов	<u>14(11-18)**</u> 2(2;4)	<u>12,5 (8-17)**</u> 1,5 (0-3)
Число глиальных клеток	<u>149(147-157)**</u> 203(193-223)	<u>176 (154-196)**</u> 208,5 (199-299)
Количество актов нейронофагии	<u>7(6-9)*</u> 2(2-3)	<u>5 (2-9)**</u> 1 (0-2)

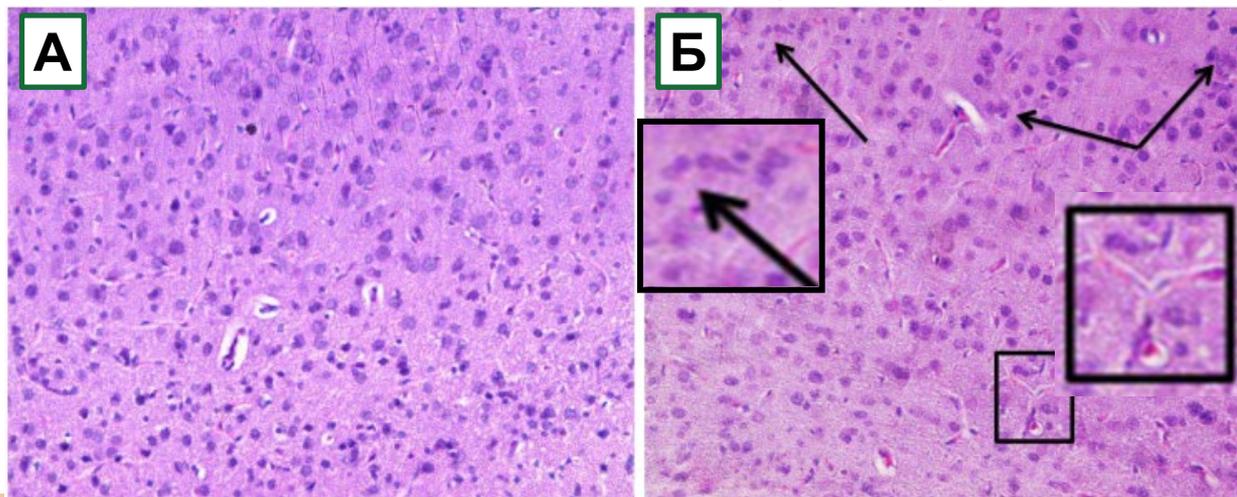
Примечание: под чертой - показатели соответствующей контрольной группы; * - различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$, ** - при $p \leq 0,01$, Me(Q25-Q75)

Ткань головного мозга самцов белых крыс 1 неделя экспозиции (А) контрольная, (Б) опытная группа

↑ - нейронофагия,

□ – полнокровные сосуды с расширением периваскулярных пространств.

Окр. гематоксилин-эозин. Ув. X 400



Вывод 1

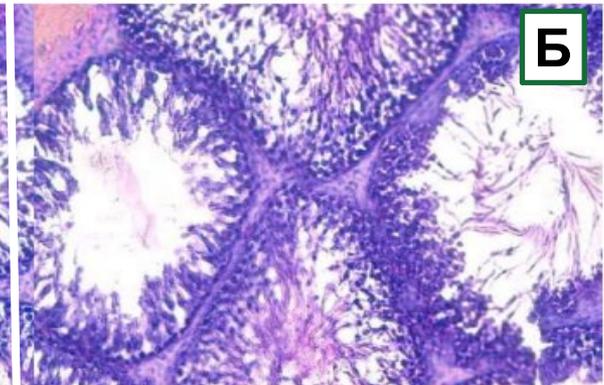
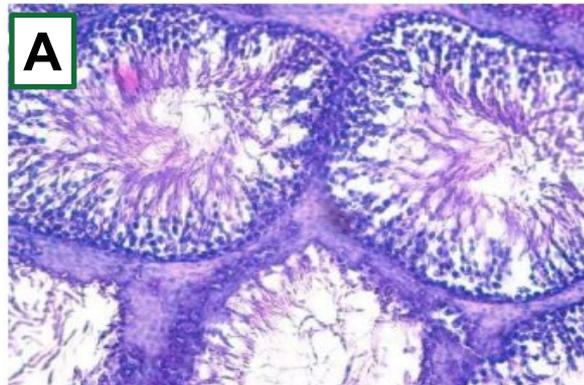
- ❖ В результате исследования морфофункционального состояния ЦНС животных родительского поколения установлено, что воздействие продуктов горения в течение 1 недели и 4 недель оказывает значительное негативное действие на показатели поведения экспериментальных животных и приводит к однонаправленным изменениям морфологической структуры ткани коры головного мозга.
- ❖ Выявленные морфоструктурные изменения сенсомоторной коры не зависят от длительности экспозиции, и вероятно, являются морфологическим субстратом нарушений поведенческих и когнитивных функций.

Результаты морфометрического исследования семенников белых крыс

Показатели	1 неделя	4 недели
Индекс сперматогенеза	<u>3,89(3,8-4,0)</u> 3,99(3,7-4,1)	<u>3,09 (1,1-5,1)*</u> 4,0 (3,5-4,2)
Число канальцев со слущенным эпителием, %	<u>0,8(0,8-0,9)</u> 0,8(0,8-0,8)	<u>0,8 (0,6-0,9)</u> 0,8 (0,6-1)
Среднее число сперматогониев,%	<u>40,0(39,9-40,7)</u> 40,4(40,2-41,6)	<u>38,7 (29,8-42,7)*</u> 40,3 (38,9-41,9)
Количество клеток Лейдига	<u>10,4 (10,3-12,5)</u> 11,4 (9,2 – 13,2)	<u>9,0 (8,7-10,0)*</u> 11,0 (10,8-13,0)

Примечание: под чертой - показатели соответствующей контрольной группы; * - различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$, $Me(Q25-Q75)$

Срез семенника белых крыс контрольной (А) и опытной групп (Б) 4 недели экспозиции. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. X 400.

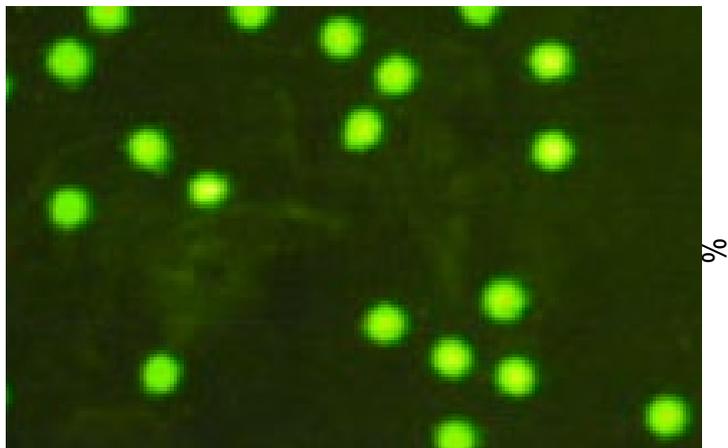


Вывод 2

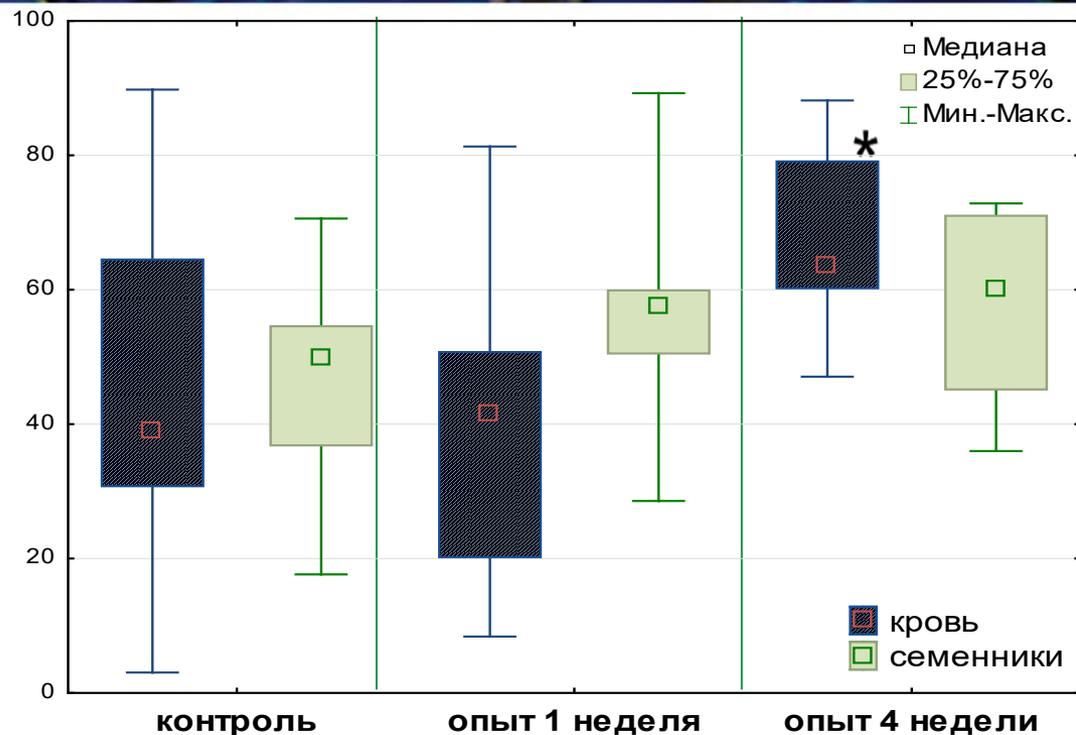
- ❖ Увеличение длительности экспозиции до 4 недель приводит к значительному нарушению мужского репродуктивного потенциала.



Уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках крови и семенниках белых крыс



Полногеномное метилирование ДНК клеток крови



* - различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$

В течение 1 недели экспозиции статистически значимых изменений не выявлено.

В течение 4 недель выявлено повышение уровня полногеномного метилирования в клетках крови.

Результаты исследования ЦНС потомства

Показатели	Потомство полученное от самцов экспонированных в течение 1 недели		Потомство полученное от самцов экспонированных в течение 4 недель	
	самцы	самки	самцы	самки
Двигательная активность (локомоции)	↓ ↓	↑ ↑	↓ ↓	↓
Исследовательская активность (норковый рефлекс)	↓ ↓	↓ ↓	-	↓
Тревожность (груминг, фризинг)	-	↑	↑ ↑	↑ ↑
Когнитивные способности (лабиринт Морриса, УРПИ)	-	-	↓ ↓	-
Гистологические и морфметрические изменения ЦНС	-	-	-	-

Примечание: ↑ - повышение, ↓ - снижение ($p < 0,05$); ↑↑ - значительное повышение, ↓↓ - значительное снижение ($p < 0,01$), - отсутствие изменений.

Вывод 3

- ❖ Выявлен трансгенерационный эффект экспозиции продуктами горения у животных первого поколения, проявившийся в виде стойких изменений структуры поведения у потомства.



Корреляция между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения с показателями поведения потомства

Показатели	Уровень полногеномного метилирования ДНК
	Кровь
Количество актов «фризинг»	$r = 0,30$ ($p = 0,002$)
Количество актов «обследование отверстий»	$r = 0,21$ ($p = 0,04$)
Общее число пересеченных квадратов	$r = 0,25$ ($p = 0,014$)

Выявлена положительная корреляция между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения и показателями тревожности и исследовательского поведения у потомства

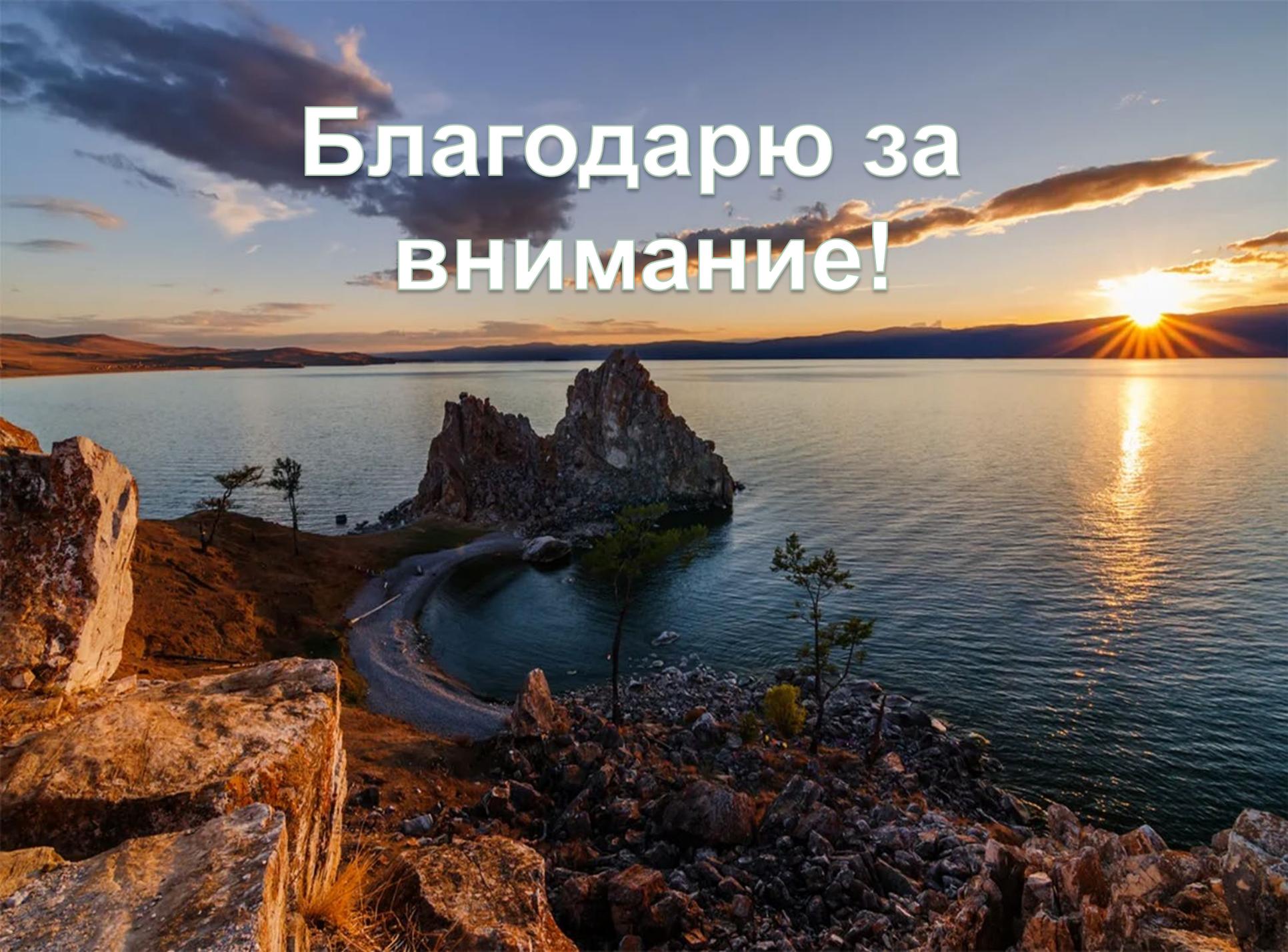
Заключение

- ❖ В результате проведенных исследований разработана модель, которая позволяет определить влияние задымления воздуха при природных пожарах на репродуктивную функцию родителей и состояние ЦНС потомства, что имеет важное значение при оценке профессиональных рисков здоровья пожарных, а также семей планирующих детей.
- ❖ Значительное влияние задымления воздуха при лесных пожарах на здоровье последующего поколения обосновывает необходимость изучения комбинированных эффектов при экспозиции обоих родителей, что может обеспечить более точную оценку риска отдаленных последствий.

Внедрение результатов использования

- 8 статей , из них:
 - в журналах РИНЦ – 7;
 - в журнале Scopus – 1;
 - Участие в конференциях - 10;
- в том числе:
- ✓ Эпигенетические изменения как маркер воздействия продуктов горения от лесных пожаров / Е.С. Богомолова, А.Н. Алексеенко, Т.А. Елфимова, М.А. Новиков, В.А. Вокина // В сборнике: Богатство России, 2019. С. 195-196.
 - ✓ III Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Экология и здоровье населения» 10-14 сентября 2018г. г. Иркутск-Байкальск. Устный доклад «Метилирование ДНК как маркер воздействия продуктов горения от лесных пожаров». Богомолова Е.С.
 - ✓ Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения. материалы Международной научной конференции, посвященной 100-летию высшего биологического образования в Восточной Сибири. Иркутский государственный университет», 2019. С. 28-30.«Полногеномное метилирование ДНК в клетках мозга и крови потомства белых крыс, подвергавшихся воздействию продуктов горения». Андреева Е.С.
- Подготовлена заявка на изобретени «Способ моделирования интоксикации продуктами горения лесного горючего материала».
 - Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № [18-315-00237](#) «*Оценка вклада эпигенетических изменений, обусловленных воздействием продуктов горения (на экспериментальной модели лесного ландшафтного пожара) в развитии отдаленных последствий у последующих поколений*» 2018-2019гг.
 - Продолжена работа в рамках проекта № [2020-1902-01-071](#) «*Фундаментальные основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической обстановки Байкальской природной территории*» (грант в форме субсидий на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития).

**Благодарю за
внимание!**



- 
- ❖ Разработана экспериментальная модель, максимально близко отражающая естественный процесс горения при ландшафтном пожаре.
 - ❖ Наблюдаемые изменения морфологической структуры ткани коры головного мозга у экспонированных животных не зависят от длительности экспозиции, тогда как увеличение длительности воздействия приводит к значительным морфофункциональным нарушениям репродуктивной системы экспонированных животных.
 - ❖ Длительная экспозиция продуктами горения лесного горючего материала в течение 4 недель привела к эпигенетическим модификациям ДНК у родительского поколения, проявившимся в виде статистически значимого гиперметилирования ДНК в крови самцов белых крыс.
 - ❖ Выявлена взаимосвязь между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения и показателями тревожности и исследовательского поведения у потомства.