

Введение Среди вопросов, представляющих научный интерес, не многие приковывают к себе столь постоянное внимание общественности и вызывают так много споров, как вопрос о действии радиации на человека. К сожалению, достоверная научная информация по этому вопросу очень часто не доходит до пациентов, поэтому им приходится пользоваться всевозможными слухами. Радиация действительно смертельно опасна. При больших дозах она вызывает серьезные поражения тканей, а при малых - может вызывать рак и индуцировать генетические дефекты, которые, возможно, проявятся у детей и внуков человека, подвергшегося облучению, или у его более отдаленных потомков [1]. Для основной массы населения самые опасные источники радиации - вовсе не те, о которых больше всего говорят. Наибольшую дозу человек получает от естественных источников радиации. Радиация, связанная с развитием атомной энергетики, составляет лишь малую долю радиации, порождаемой деятельностью человека; значительно большие дозы мы получаем от других, вызывающих гораздо меньше нареканий форм этой деятельности, например - от применения рентгеновских лучей в медицине [1]. В настоящее время в клинической практике используются различные типы томографов, разные направления, углы размазывания и проекции томографии. Созданные для компьютерной томографии аппараты, от достаточно простого и дешевого до весьма дорогих и работающих в реальном масштабе времени, позволяют применить метод как в поликлинических условиях при проведении диспансеризации, так и в специализированных стационарах. Вместе с тем, возможности продольной томографии в практическом здравоохранении реализуются недостаточно. Целью настоящей работы было выяснение оценки генотоксических эффектов облучения на рентгено-компьютерных томографах. Материалы и методы исследования Протокол облучения биологического материала представлен в таблице 1. Таблица 1 - Исследуемые дозы облучения

Оценка токсичности биологических, химических соединений и различных физических воздействий по отношению к тестерным микроорганизмам - обязательный этап, необходимый для подбора диапазона оптимальных концентраций и доз, при тестировании их на генотоксичность и мутагенность.

Экспериментальная часть

1. За 12-15 ч. до проведения эксперимента делают пересев культуры тестерного штамма *Salmonella typhimurium* TA 100 с косяка в 5 мл LB-бульона для получения "ночной" культуры.
2. 2% LB-агар разливают в чашки Петри.
3. Делают разведения "ночной" культуры в водопроводной воде.
4. Растопленный 0.6% LB-агар разливают стерильно по 3 мл в пробирки и ставят в водяную баню при 45°C.
5. В пробирки с 3 мл полужидкого 0.6% LB-агара вносят 0.1 мл бактериальной суспензии нужного разведения и 0.1 мл раствора вещества в исследуемой концентрации (в нашем случае опытным вариантом служили облученные образцы). Раствор перемешивают и наслаивают на нижний 2% LB-агар в чашки Петри. В контроле вместо раствора вещества добавляют 0.1

мл растворителя (в случае облучения опытных образцов добавления растворителя в контроль не требовалось). После 24ч. инкубации при 37°C подсчитывают число колоний, выросших на чашках Петри в опытном и контрольном вариантах. Для оценки степени токсичности исследуемого вещества (в нашем случае - доз облучения) используют критерий "выживаемость" тестерного штамма при действии определенной дозы вещества.

число колоний в опыте $\text{Выживаемость} = \frac{\text{число колоний в опыте}}{\text{число колоний в контроле}} \times 100\%$

Среды LB-бульон: триптон - 10 г, дрожжевой экстракт - 5 г, NaCl - 5 г, дистиллированная вода - 1000 мл. 2% LB-агар: LB-бульон - 1000 мл, агар - 20 г. 0,6% LB-агар: LB-бульон - 1000 мл, агар - 6 г. В нашем случае разведение культуры делали до 10⁻⁵. Полученные результаты представлены на рисунке (число КОЕ/ч.Петри). Все сконструированные Эймсом с соавторами [2] тестерные штаммы исходно получены из штамма *Salmonella typhimurium* дикого типа LT2. Для повышения чувствительности этих штаммов к химическим мутагенам и канцерогенам в геном бактерий введены некоторые добавочные маркеры. Оценку мутагенности проводили в тесте Эймса на мутантном штамме *S. typhimurium* TA 100 - his G46, rfa, uvr-, rkm 101, bio-. Мутация в гистидиновом опероне (his-) вызывает ауксотрофность по этой аминокислоте у мутантов. Штамм TA 100 регистрирует мутации типа замены пар оснований (his G46). Мутация в гене uvr B приводит к нарушению процесса эксцизионной репарации, благодаря чему возникшее повреждение ДНК остается неисправленным и, таким образом, увеличивается чувствительность тестерного штамма к некоторым мутагенам. Делеция в гене uvr B проходит также и через ген bio. При rfa-мутации ("шероховатые колонии") нарушается синтез липополисахаридов, в результате чего клетка теряет патогенность, а также возрастает проницаемость ее клеточной стенки и облегчается проникновение мутагенов в клетку. Штамм TA 100 несет также плазмиду устойчивости к ампициллину rKm 101 и ген umi C, что увеличивает вклад ошибочной репарации в процесс мутагенеза, и, следовательно, чувствительность штамма [2,3]. В тесте на токсичность также использовали мутантный штамм *S. typhimurium* TA 100. Сущность теста заключается в том, что тестерные штаммы бактерий *Salmonella typhimurium* культивируют на специальной среде, на которой могут расти лишь мутанты этих штаммов, у которых произошла мутация от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. Без внешних воздействий такие мутации происходят с низкой частотой. Если в среду культивирования ввести химический мутаген, или воздействовать физическим мутагеном (например, радиационное облучение), то частота мутаций значительно увеличивается, что регистрируется по числу колоний. Если число колоний-ревертантов в опыте и контроле достоверно различается менее, чем в 2.5 раза, то делается заключение об отсутствии мутагенной активности. Если фиксируют превышение от 2.5 до 10 раз, то делается заключение о наличии слабой мутагенной активности. Превышение от

10 до 100 раз говорит о средней мутагенной активности исследуемого соединения. Если фиксируют превышение более, чем в 100 раз, - вещество обладает сильной мутагенной активностью [4,5]. Проверке на мутагенность всегда предшествовала проверка токсичности облучения по отношению к тестерным штаммам для исключения возможности получения ложноотрицательных результатов в испытаниях на мутагенность. Условия культивирования *Staphylococcus aureus*: выращивание суточной культуры (24 часа) проводили на L-бульоне при 37°C. Для определения гемолитической активности использовали кровяной агар с добавлением 5% суспензии эритроцитов барана. О величине общей гемолитической активности судили по размеру зон лизиса вокруг колоний *S. aureus* на кровяном агаре. Для определения протеолитической активности использовали молочный агар: мясопептонный агар с добавлением 10 % пастеризованного молока. О величине протеолитической активности судили по размеру зон лизиса вокруг колоний *S. aureus* на молочном агаре. Для определения лецитиназной активности использовали желточно-солевой агар (ЖСА): мясопептонный агар с добавлением 10% NaCl и 10% суспендированного желтка (желток одного яйца суспендируют в 200 мл 0,8% NaCl). О величине лецитиназной активности судили по зонам помутнения среды вокруг колоний *S. aureus* на ЖСА. Статистический анализ проводили с использованием стандартных математических методов в компьютерной программе "Microsoft-Excel".

Оценка токсических и генотоксических эффектов исследуемых доз облучения. Токсический эффект определяли по выживанию тестерного штамма в опытных вариантах по сравнению с контрольным [4,5]. Ранее аналогичные исследования нами были проведены в отношении химических соединений фуранонового ряда [6]. Тестерным штаммом в опыте служила *Salmonella typhimurium* TA 100. В ходе работы было зарегистрировано снижение числа колониеобразующих единиц (КОЕ) приблизительно в 5 раз для облученных вариантов (рис. 1). Рис. 1 - Число КОЕ *S. typhimurium* на ч.Петри в облученных вариантах по сравнению с контролем. Далее мы определяли мутагенные эффекты исследуемых доз облучения. Результаты представлены на рисунке 2. Мутагенных эффектов не наблюдали, однако это может быть связано с высокими токсическими эффектами выбранных режимов облучения. Возможно, при работе с меньшими дозами мутагенные эффекты могли быть зарегистрированы. Рис. 2 - Число колоний-ревертантов в тесте Эймса в облученных вариантах по сравнению с контролем.

Оценка выживаемости и физиолого-биохимических параметров золотистого стафилококка при действии облучения. Для определения ферментативной активности провели высеивание на кровяной агар для определения гемолитической активности, на молочный агар для определения протеолитической активности, на желточно-солевой агар (ЖСА) для определения лецитиназной активности. Ни в одном из вариантов изменения ферментативных активностей

по сравнению с контролем не наблюдали. В то же время наблюдали снижение числа КОЕ в образцах, подвергшихся обработке, в 1.5-2.5 раз по сравнению с контролем (рис. 3). Рис. 3 - Изменение количества КОЕ *S.aureus* на ч. Петри после облучения по сравнению с контролем Таким образом, нами показано, что микроорганизмы реагируют на облучение рентгено-компьютерных томографов в режимах, применяемых для работы в медицинских учреждениях, в связи с чем необходимы исследования подобных воздействий на собственную микрофлору человека.