

# АНАЛИЗ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У МОДЕЛЬНОГО ТЕСТ-ОРГАНИЗМА *DAPHNIAMAGNA* В КАЧЕСТВЕ НОВОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОБЛУЧЕНИЯ

Е.И.Сарапульцева\*, \*\*, \*\*\*, А.С.Морозова\*, Н.И. Колесникова\*,  
Н.Б. Савина\*, Д.В. Ускалова\*, К.В. Устенко\*\*

\* *Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ*  
*249040, Калужская обл., г. Обнинск, Студгородок, 1*

\*\* *Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»*  
*115409, г. Москва, Каширское ш., 31*

\*\*\* *Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ*  
*«НМИЦ радиологии» Минздрава России*  
*249036, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, 4*



Цель работы – апробация метода низкокогерентной интерференционной микроскопии в качестве нового подхода для анализа пространственно-временных характеристик сердечного ритма у модельного тест-объекта *Daphniatagna* и оценки радиоэкологических последствий облучения. В качестве воздействующего фактора применено острое внешнее гамма-облучение в дозе 10 Гр. Проведенное исследование показало, что метод низкокогерентной интерферометрии является эффективным инструментом для изучения частоты сердечных сокращений *Daphniatagna* как физиологической функции на стрессовое воздействие. Частоту сердцебиения измеряли на 2, 10, 14 и 19 сут после облучения одновременно в контрольной и опытной группах *Daphniatagna*. Дисперсионный анализ показал значимое влияние времени после гамма-облучения на изменение частоты сердцебиения экспериментальных животных. При этом вклад облучения в формирование отдаленного эффекта в период от вторых до 19 сут после воздействия не выявлен.

**Ключевые слова:** гамма-облучение, метод интерферометрии живых систем, частота сердцебиения, *Daphniatagna*, радиоэкология, отдаленный радиационно-индуцированный эффект.

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие спектр научных интересов в области естественных наук сместился от физики к наукам о жизни. Такой тренд предполагает развитие междисциплинарных направлений на стыке классических наук – физики, химии, биологии, материаловедения, инженерии для создания новых технологий, методов и

© *Е.И.Сарапульцева, А.С.Морозова, Н.И. Колесникова, Н.Б. Савина,*  
*Д.В. Ускалова, К.В. Устенко, 2020*

приборов для биоэкологических и биомедицинских целей.

*Daphniamagna* (далее *D. magna*) является полупрозрачным пресноводным ракообразным (класс Crustacea, отряд Cladocera). Эти животные широко используются в качестве ключевой модели в области экотоксикологии, где анализируется воздействие токсинов на человека и экосистемы [1]. *Daphnia* как модельный тест-организм применяется также для тестирования новых лекарственных средств в области фармакологии, поскольку структура генома *D. magna* определена и имеет высокое сходство с геномом человека [2]. Исследование частоты сердечных сокращений является важным показателем жизнеспособности организма. Миогенное (миоциты инициируют сокращения) сердце *D. magna* является основным средством циркуляции гемолимфы у кладоцер [3]. Частота сердцебиения *D. magna* легко изменяется под действием физических и химических факторов и является физиологическим индикатором скорости метаболизма у *D. magna* [4].

Проведенные нами предварительные эксперименты на *D. magna* показали, что низкокогерентная интерферометрия позволяет существенно повысить точность измерения частоты сердечных сокращений как функцию времени [5, 6]. Это может иметь первостепенное значение, например, в донозологической диагностике распознавания состояний организма, пограничных между нормой и патологией и характеризующихся нарушением равновесия между организмом и средой. Помимо повышения точности измерения, актуальность метода интерферометрии живых систем, например, в радиологии, может быть обусловлена необходимостью регистрации ряда важных пространственно-временных характеристик сердца. К ним можно отнести форму, объем, амплитуду колебаний, аритмичность сокращения клапанов межкамеральных остий. Понимание закономерностей пространственно-временных изменений сердца позволит управлять лучевыми реакциями организма, применять в радиофармакологии и медицинской практике, в первую очередь, в широко развивающейся в настоящее время междисциплинарной науке – ядерной медицине.

Целью данной работы была апробация метода низкокогерентной интерференционной микроскопии в качестве нового подхода для анализа частоты сердечного ритма у модельного тест-объекта *D. magna* и оценки радиоэкологических последствий облучения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве тест-объекта выбрана культура ветвистоусых рачков *D. magna*, которая на протяжении многих лет партеногенетически размножается в оптимальных условиях лаборатории ИАТЭ НИЯУ МИФИ в климатостате (модель R2, Россия) с автоматическим поддержанием температуры 20°C, светового режима 12/12 ч свет:тьма и вентилирования.

Для регистрации частоты сердцебиения *D. magna* методом цифровой низкокогерентной интерференционной микроскопии был использован интерферометр Маха-Цендера [5], в рабочем плече которого размещали тест-организм на предметном стекле в небольшой капле культуральной воды, обеспечивающей нормальную жизнедеятельность животного. В качестве источника излучения использовали лазерный источник суперконтинуума, обладающий широким спектром (0,4 – 2,0 мкм) при высокой пространственной когерентности излучения. В опорном плече интерферометра размещали пьезозеркало с целью модуляции его длины в ходе записи интерферограмм.

В качестве воздействующего фактора было выбрано внешнее гамма-облучение  $^{60}\text{Co}$ , широко применяемое в терапии и диагностике онкологических заболеваний. Односуточных *D. magna* облучали в пластиковых контейнерах с 15 мл культураль-

ной воды на установке ГУР-120 ( $^{60}\text{Co}$ , МД = 80 Гр/ч) в сублетальной для *D. magna* дозе 10 Гр на базе ВНИИРАЭ (Обнинск). ЛД<sub>50</sub> для данного вида ракообразных составляет около 60 Гр [7, 18]. Особи контрольной группы находились в аналогичных условиях, но без облучения. Далее рачков пересаживали по 10 особей в лабораторные стаканы с дехлорированной и дважды фильтрованной водопроводной водой и культивировали в климатостате. Кормили рачков по стандартной схеме суспензией зеленых водорослей *Chlorellavulgaris* из расчета 2 мгС/л в сутки [8, 9].

Частоту сердцебиения измеряли на 2, 10, 14 и 19 сут после облучения одновременно в контрольной и опытной группах *D. magna* в Московском Политехе. Для этого рачков извлекали из культуральных стаканов и по несколько особей (от трех до пяти) помещали в каплю воды на предметном стекле в фокус объектива микроскопа. Небольшой объем капли не позволял животным активно двигаться. Сверстка изображения с ядром оператора Шара давала изображение с выделенными границами (контуры животных). По контурам вычисляли бинарные маски, которые, будучи помноженными на исходное изображение, позволяли выделить анализируемую область объекта. На выделенном изображении объекта определяли ключевую точку (например, глаз дафнии [10]). Отталкиваясь от ключевой точки, проводили поиск области изображения, содержащего сердце. Интеграл интенсивности этой области, нормированный на площадь, являлся искомым сигналом, фурье-преобразование которого давало частоту сердцебиения. Для регистрации интерферограмм использовали высокоскоростную камеру с частотой 100 кадров в секунду. Используемый подход низкокогерентной интерферометрии позволяет измерять пространственные характеристики с высоким пространственным разрешением и открывает возможность измерения ЧСС сразу нескольких дафний одновременно без их предварительной фиксации.

В соответствии с имеющимися сведениями из литературы [10] животных оставляли в области измерения на 7 – 10 мин для акклиматизации. Далее, в течение 30 с проводили измерение частоты сердцебиения. Одновременно облучали заведомо большое количество односуточных *D. magna*, чтобы на каждой временной точке иметь достаточное количество животных для анализа. После измерения особь в эксперимент не возвращали во избежание в дальнейшем ложных результатов за счет травмирования животных при манипуляциях.

Статистическая обработка результатов измерения частоты сердцебиения была выполнена с помощью пакета программ STATISTICA 8. Значимость отличия дозовых групп с соответствующим контролем оценена тестом Крускала-Уоллиса с поправкой Бонферрони на множественное сравнение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Как показали проведенные эксперименты, регистрация интерферограмм сердца *D. magna* в свете пространственно-когерентного источника видимого диапазона (0.45 – 0.7 мкм) существенно осложнена диффузным рассеянием света из-за плотности хитинового покрова. В длинноволновой области (0.8 – 1 мкм) хитиновый слой оказался прозрачным. Это позволило зарегистрировать процесс сердечных сокращений высокоскоростной камерой в интерферометре с открытым и закрытым опорным плечом и после устранения фона записать интерференционную картину. Видеоряд, полученный при увеличении микроскопа  $\times 20$ , составлял 100 кадров в секунду. Сегмент с сердцем занимал область около 250 $\times$ 250 пикселей, 12 бит. Точность метода составляла около 0,1 Гц. Для анализа изображения были проведены расчеты функции корреляции первого кадра с последующими, по ко-

торой с помощью S-преобразования Фурье получили частотно-временное представление сигнала. Использованный подход позволил исследовать характер сердечного ритма *D. magna* и с высокой точностью измерить во времени его частоту после радиационного воздействия.

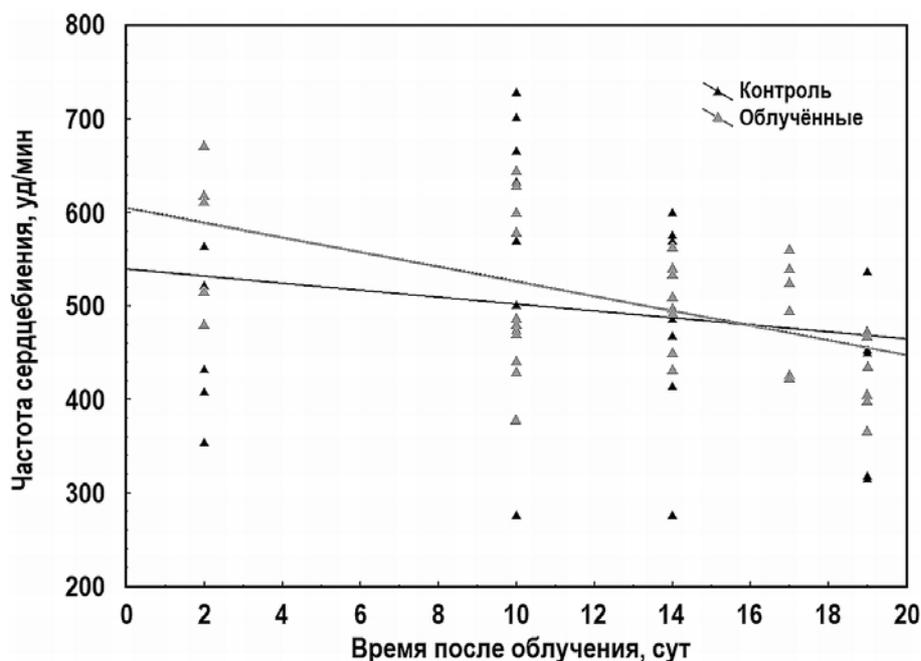


Рис. 1. Динамика изменения частоты сердцебиения у контрольных и  $\gamma$ -облученных особей *D. magna* в разные временные интервалы после воздействия. Контроль:  $n = 32$ ,  $r = -0,17$ ,  $p = 0,35$ . Облученные:  $n = 40$ ,  $r = -0,54$ ,  $p = 0,0004$

Таблица 1

**Изменение частоты сердцебиения в минуту в образцах *D. magna* в контроле и после  $\gamma$ -облучения в дозе 10 Гр**

Время после облучения, сут	2	10	14	19
Контроль				
<i>N</i>	6	10	10	6
<i>M</i> $\pm$ <i>SEM</i>	467,0 $\pm$ 33,1	572,4 $\pm$ 45,2	492,6 $\pm$ 31,6	406,5 $\pm$ 36,0
Облученные в дозе 10 Гр				
<i>N</i>	6	12	10	12
<i>M</i> $\pm$ <i>SEM</i>	586,0 $\pm$ 29,6	520,0 $\pm$ 26,4	507,6 $\pm$ 14,0	459,5 $\pm$ 17,6
<i>P</i> *	0,22	0,59	1	0,82
<i>M</i> – средние значения сердцебиений в минуту; <i>SEM</i> – стандартная ошибка; <i>N</i> – количество проанализированных образцов. * Вероятность теста Крускала-Уоллиса для сравнения с контрольной группой с поправкой Бонферрони на множественное сравнение				

На рисунке 1 и в табл. 1 представлены результаты измерения частоты сердечных сокращений *D. magna* на вторые и более поздние сутки в контрольных образцах и после  $\gamma$ -облучения в дозе 10 Гр. На рисунке видна тенденция к снижению частоты сердцебиения с возрастом исследуемых особей. Результат дисперсионного анализа, оценивающий вклад радиационного воздействия, времени

после воздействия и их взаимодействия, приведен в табл. 2.

Таблица 2

**Дисперсионный анализ вклада фактора времени и дозы облучения в наблюдаемый эффект изменения частоты сердцебиения у *D.magna***

Фактор	Сумма квадратов отклонений, SS	Степени свободы, df	Средний квадрат отклонений, MS	F	Prob
Доза облучения	5,21	1	5,21	2,30	0,13
Время после облучения	34,97	3	11,66	5,15	0,003
Взаимодействие	17,35	3	5,78	2,55	0,06
Ошибка	144,95	64	2,26		

Видно, что имеет место достоверное влияние времени на частоту сердцебиения *D. magna* как в контрольных, так и в облученных образцах. Из таблицы также следует, что кратковременное облучение в дозе 10 Гр, применённое в эксперименте, значимо не влияет на частоту сердцебиения исследуемых особей со вторых по 19-е сутки после воздействия на животных.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Апробирован новый метод низкокогерентной интерференционной микроскопии для измерения частоты сердечных сокращений *D. magna* как физиологической реакции на радиационное воздействие в сублетальной дозе. Результаты показали, что частота сердечных сокращений является чувствительным параметром и легко поддается количественной оценке с помощью этого метода. Оптическими методами измерения физиологических параметров, в том числе сердцебиения, в настоящее время занимается ряд лабораторий и научных центров разных стран. Сердце *D. magna* неоднократно использовалось разными исследователями как индикатор влияния внешних факторов на интенсивность жизненных процессов. Известно, что частота сердцебиения коррелирует с уровнем обмена веществ [4]. Сердце *D. magna* имеет вид округлого мешка с одной парой боковых остий. Сокращения сердца совершаются с большой частотой и при температуре 20°C достигают у взрослой *D. magna* в среднем 140 – 180 ударов в минуту, а у новорожденной молодежи до 250 – 400 ударов в минуту [1]. Гемолимфа из сердца поступает в лакуны тела. Осмотическое давление крови при нормальных условиях равняется двум – четырем атмосферам.

Ранее для оценки сердечных сокращений у *D. magna* использовали ручной подсчет под бинокулярной лупой [11, 12]. В настоящее время разработано много методов учета частоты сердцебиения. В частности, предлагают использовать сегментирование сердца путем нахождения частоты сигнала, сформированного эйлеровыми группами пикселей из последовательных кадров в видео [13], или анализировать частоту сокращения сердца *D. magna* на основе эффекта автодинного детектирования в полупроводниковом лазере [14]. Видеоряд сердечных сокращений, полученный камерой, обрабатывают вручную или автоматически [15]. Однако известные к настоящему времени оптические когерентные методы не позволяют проводить одновременную регистрацию указанных параметров с необходимым пространственно-временным разрешением. Работа в низкокогерентном излучении ближнего ИК-диапазона существенно понизила спекл-шум. Это позволило, в частности, зарегистрировать оптический фазовый профиль глазного клеща *Demodex* [16]. Было показано, что подход низкокогерентной интерферометрии позволяет измерять пространственные характеристики образца с высоким пространственным разрешением.

В качестве экологического фактора в работе было выбрано острое гамма-облуче-

ние, которое на протяжении длительного времени после воздействия вызывает нарушение метаболической активности рачков *D. magna* [17]. Продолжительность жизни *D. magna* в оптимальных условиях лаборатории достигает трех месяцев [18]. Жизненный цикл включает в себя несколько критических периодов [19], в которые фиксируют негативные эффекты радиационного воздействия – скачкообразное снижение выживаемости *D. magna* [20, 21], повышение уровня свободных радикалов [22], снижение дегидрогеназной активности и активности ферментов антиоксидантной защиты, выявленное МТТ-тестом [23]. Анализируя результаты проведенного исследования, мы не обнаружили значимого эффекта радиационного воздействия на *D. magna* по изменению частоты сердцебиения экспериментальных животных на 2, 10, 14 и 19 сут после облучения. Однако можно сказать, что метод низкокогерентной интерферометрии является эффективным инструментом для изучения частоты сердечных сокращений *D. magna* как физиологической функции на стрессовое воздействие. Необходимо продолжить исследования, увеличив выборку животных, чтобы оценить корреляцию изучаемого параметра жизнедеятельности *D. magna* с нарушением метаболической активности и выяснить возможность использования показателя сердцебиения для изучения влияния стрессоров на скорость метаболизма, поскольку этот процесс является основным источником получения и расходования энергии у животных.

**Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ  
в рамках научного проекта № 18-07-01403  
и программы повышения конкурентоспособности МИФИ № 02.а03.21.0005**

### **Благодарности**

Авторы благодарят сотрудников Московского Политеха Каленкова Г.С. и Заалишвили Н.Ю. за измерение частоты сердцебиения тест-организма, сотрудника ВНИИРАЭ Тихонова А.В. за гамма-облучение исследуемых образцов и дозиметрический контроль.

### **Литература**

1. Ebert D. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 2, Introduction to *Daphnia* Biology. Электронный ресурс: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/> (дата доступа 10.04.2020).
2. Colbourne J.K., Pfrender M.E., Gilbert D., Thomas W.K. et al. The Ecoresponsive Genome of *Daphnia pulex*. // Science. – 2011. – Vol. 331. – PP. 555-561.
3. Smirnov N. Physiology of the Cladocera. – Academic Press, San Diego, CA, USA. 2013.
4. Lovern S.B., Strickler J.R., Klaper R. Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C60, and C60HxC70Hx) // Environ. Sci. Technol. – 2007. – Vol. 41. – PP. 4465-4470.
5. Каленков Г.С., Каленков С.Г., Штанко А.Е., Тирас Х.П. и др. Корреляционный анализ динамики сердечных сокращений *Daphnia magna* методами низкокогерентной интерферометрии. / Тезисы докладов I Международной (XIV региональной) научной конференции «Техногенные системы и экологический риск». / Под общ. ред. А.А. Удаловой. – Обнинск: ИАТЭ НИЯУ МИФИ. – 2017. – С. 109.
6. Sarapultseva E., Tiras K., Kalenkov S., Shtanko A. et al. Low-coherent interferometry applied to *Daphnia magna* heartbeat counting and contrast enhancement in radiobiology and biomedicine. / In: Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine. The II-nd Int. Symposium: Book of Abstracts. – Moscow. NRNU MEPhI. – 2017. – PP. 373-374.
7. Тряпицына Г.А. Реакция биоценозов водных экосистем на хроническое радиационное воздействие. Автореф. диссертации на соискание уч. степени доктора биол. наук. – М.: МГУ. – 2011. – 46 с.

8. Мелехова О.П., Сарапульцева Е.И., Евсеева Т.И., Глазер В.М. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / Под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Сарапульцевой. – М.: ИЦ «Академия». – 2010. – 288 с.
9. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). In: Test No 202: *Daphnia* Sp. Acute Immobilisation Test. – OECD Publishing, Paris, 2012. – 25 p.
10. Mansoor Roomi S.Md., Ananta Narayanan B., Rohini S. A Novel Approach for Heart Beat Counting of *Daphnia pulex* / In: IV-th ICCCNT, 2013. July 4-6, 2013, Tiruchengode, India.
11. Егорова Е.И., Ефремова О.В., Капырина Ю.Ю. Изменение физиологических параметров фито- и зоогидробионтов под действием низкоинтенсивного СВЧ-излучения. / В кн.: Электромагнитные излучения в биологии: БИО-ЭМИ-2008. Труды IV Международной конференции. Калуга, 21-23 октября 2008 г. / Под ред. Г.В. Чернова, О.П. Эндебера. – Калуга: КГПУ им. К.Э. Циолковского Калуга. – 2008. – С. 48-40.
12. Колупаев Б.И., Андреев А.А., Самойленко Ю.К. Оптический метод регистрации сердечного ритма у дафний. // Гидробиологический журнал. – 1977. – № 3. – С. 19-22.
13. Леонтьев В.В. Изучение пульсации сердца *Daphnia cucullata* G.O. Sars, 1862 в тестируемых растворах. / В сб. научных трудов SWorld: материалы Международной научно-практической конференции «Современные направления теоретических и прикладных исследований», 2013. Одесса: Издат. Куприенко, 2013. – Вып. 1. – Т. 38. – С. 11-16.
14. Усанов Д.А., Скрипаль А.В., Вагарин А.Ю., Потанов В.В. и др. Лазерная автодинная интерферометрия динамических параметров биообъектов // Письма в ЖТФ. – 1998. – Т. 24. – № 5. – С. 39-43.
15. Подосиновиков Н.П., Беляев В.А., Долго-Сабуров В. Б. Исследование межмедиаторной регуляции сердечного ритма с использованием альтернативного тест-объекта *D. magna*. / Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – № 6. – С. 49-52.
16. Каленков С.Г., Каленков Г.С., Карпилова М.А., Штанько А.Е. Регистрация гиперспектральных голограмм глазного клеща *Demodex* в ближнем инфракрасном диапазоне. // Медицинская техника. – 2018. – № 6. – С. 18-22.
17. Савина Н.Б., Ускалова Д.В., Сарапульцева Е.И. Использование МТТ-теста для изучения отдалённых эффектов острого  $\gamma$ -облучения у ракообразных *Daphniamagna* // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2018. – Т. 27. – № 1. – С. 86-93.
18. Сарапульцева Е.И. Биологические эффекты радиационного воздействия у низших ракообразных *Daphniamagna*. Аналитический обзор. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2017. – Т. 57. – № 4. – С. 414-428.
19. Harris K.D.M., Bartlett N.J., Lloyd V.K. *Daphnia* as an Emerging Epigenetic Model Organism. – Hindawi Publishing Corporation Genetics Research International. – 2012. – PP. 1-8.
20. Sarapultseva E.I., Dubrova Y.E. The long-term effects of acute exposure to ionising radiation on survival and fertility in *Daphniamagna*. // Environmental Research. – 2016. – Vol. 150. – PP. 138-143.
21. Сарапульцева Е.И. Прямые и отдаленные эффекты радиационного облучения у простейших и ракообразных. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Обнинск: ИАТЭ НИЯУ МИФИ. – 2015. – 218 с.
22. Сарапульцева Е.И., Мелехова О.П., Коссова Г.В., Иголкина Ю.В. и др. Свободнорадикальные реакции *in vivo* при облучении дафний в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2014. – Т. 54. – № 3. – С. 305-308.
23. Сарапульцева Е.И., Рябченко Н.И., Иголкина Ю.В., Иванник Б.П. Использование клеточного биохимического метода для биотестирования *in vivo* радиационного загрязнения окружающей среды // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53. – № 6. – С. 634-638.

Поступила в редакцию 17.04.2020 г.

Рекомендована к публикации оргкомитетом  
XV Международной молодежной научно-практической конференции  
«Будущее атомной энергетики – AtomFuture 2019»

**Авторы**

Сарапульцева Елена Игоревна – профессор, д.б.н.

E-mail: [helen-bio@yandex.ru](mailto:helen-bio@yandex.ru)

Морозова Александра Олеговна – магистрант

E-mail: [Sashkaa95@yandex.ru](mailto:Sashkaa95@yandex.ru)

Колесникова Наталья Игоревна – магистрант

E-mail: [natasha442707245@mail.ru](mailto:natasha442707245@mail.ru)

Савина Наталья Борисовна – магистрант

e-mail: [nsavina15@yandex.ru](mailto:nsavina15@yandex.ru)

Ускалова Дарья Вадимовна – научн.сотрудник, к.б.н.

E-mail: [uskalovad@mail.ru](mailto:uskalovad@mail.ru)

Устенко Ксения Вадимовна – аспирант

E-mail: [ksustenko@yandex.ru](mailto:ksustenko@yandex.ru)

UDC504.064.2.001.18: 504.064.36

**ANALYSIS OF THE HEART RATE IN A MODEL TEST ORGANISM  
*DAPHNIA MAGNA* AS A NEW APPROACH TO THE ASSESSMENT OF  
RADIOECOLOGICAL EFFECTS OF IRRADIATION**

Sarapultseva E.I. \*, \*\*, \*\*\*, Morozova A.O. \*, Kolesnikova N.I. \*, Savina N.B. \*,  
Uskalova D.V. \*, Ustenko K.V. \*\*\*

\* Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, NRNU MEPhI

1 Studgorodok, Obninsk, Kaluga Reg., 249040 Russia

\*\* National Research Nuclear University «MEPhI»

31 Kashirskoye sh., Moscow, 115409, Russia

\*\*\*A.F. Tsyb Medical Radiological Scientific Center – branch of the FSBI  
«National Medical Research Radiological Center» of the Ministry of Health of  
the Russian Federation

4 Koroleva Str, Obninsk, Kaluga reg., 249036 Russia

ABSTRACT

The purpose of the work was to test the method of low-coherence interference microscopy as a new approach to analyzing the spatio-temporal characteristics of the heart rate in a model test object, *Daphniamagna* (*D.magna*), and assessing the radioecological effects of irradiation. As an affecter, acute external gamma irradiation at a dose of 10 Gy was used.

*D.magna* is a semi-transparent crustacean widely used in radiobiology and ecotoxicology. as a key model for analyzing the long-term effects of low doses and concentrations of pollutants. The heart rate of *D.magna* is mainly studied in screening of pharmaceutical substances at the stage of pre-clinical drug trials.

This study showed that the method of low-coherence interferometry is an effective tool for studying the heart rate of *D.magna* as a physiological stress-exposure function. The heart rate was measured at 2, 10, 14 and 19 days after irradiation simultaneously in the control and experimental groups of *D.magna*. ANOVA analysis showed a significant effect of time after gamma irradiation on changes in the heart rate of the experimental animals. At the same time, according to our data, the contribution of irradiation in the formation of a long-term effect in the period from

2 to 19 days after exposure was not revealed.

**Key words:** gamma irradiation, method of interferometry of living systems, heart rate, *Daphniamagna*, radioecology, long-term radiation-induced effect.

#### REFERENCES

1. Ebert D. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 2, Introduction to *Daphnia* Biology. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/> (accessed Apr 10, 2020).
2. Colbourne J.K., Pfrender M.E., Gilbert D., Thomas W.K., Tucker A., Oakley T.H., Tokishita S., Aerts A., Arnold G.J., M.K. Basu, Bauer D.J., Caceres C.E., Carme L., Casola C., Choi J.-H., Dettler J.C., Dong Q., Dusheyko S., Eads B.D., Fryohlich T., Geiler-Samerotte K.A., Gerlach D., Hatcher P., Jogdeo S., Krijgsveld J., Kriventseva E.V., Kyultz D., Laforsch C., Lindquist E., Lopez J., Manak J.R., Muller J., Pangilinan J., Patwardhan R.P., Pitluck S., Pritham E.J., Rechtsteiner A., Rho M., Rogozin I.B., Sakarya O., Salamov A., Schaack S., Shapiro H., Shiga Y., Skalitzky C., Smith Z., Souvorov A., Sung W., Tang Z., Tsuchiya D., Tu H., Vos H., Wang M., Wolf Y.I., Yamagata H., Yamada T., Ye Y., Shaw J.R., Andrews J., Crease T.J., Tang H., Lucas S.M., Robertson H.M., Bork P., Koonin E.V., Zdobnov E.M., Grigoriev I.V., Lynch M., Boore J.L. The Ecoresponsive Genome of *Daphniapulex*. *Science*. 2011, v. 331, pp. 555-561.
3. Smirnov N. 2013. *Physiology of the Cladocera*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
4. Lovern, S.B., Strickler, J.R., Klaper, R., 2007. Behavioral and physiological changes in *Daphniamagna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C60, and C60HxC70Hx). *Environ. Sci. Technol.* 2007, v. 41, pp. 4465-4470.
5. Kalenkov G.S., Kalenkov S.G., Shtanko A.E., Tiras H.P., Sarapultseva E.I. Correlation analysis of *Daphniamagna* heart rate using low-coherence interferometry. *Proc. of the I-st Intern. (XIV-th Reg.) Sci. Conf. «Tekhnogennye Sistemy i Ekologicheskij Risk»* Ed. A.A. Oudalova. Obninsk. IATENIYaU MIFI Publ., 2017, p. 109 (in Russian).
6. Sarapultseva E., Tiras K., Kalenkov S., Shtanko A., Kalenkov G. Low-coherent interferometry applied to *Daphniamagna* heartbeat counting and contrast enhancement in radiobiology and biomedicine. In: Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine. *The II-nd Int. Symposium: Book of Abstracts*. NRNU MEPhI Publ., 2017, pp. 373-374.
7. Tryapicyna G.A. *Reaction of biocenoses of aquatic ecosystems to chronic radiation exposure*. Abstract. Dr. biol. sci. diss. Moscow: MSU, 2011. 46 p. (in Russian).
8. Melekhova O.P., Sarapultseva E.I., Evseeva T.I., Glazer V.M., Geras'kin S.A., Doronin YU.K., Kitashova A.A., Kitashov A.V., Kozlov Yu.P., Kondrat'eva I.A., Kossova G.V., Kotelevcev S.V., Matorin D.N., Ostroumov S.A., Pogosyan S.I., Smurov A.V., Solovyh G.N., Stepanov A.L., Tushmalova N.A., Cacenko L.V. *Biological control of the environment: bioindication and bioassay*. Eds. O. P. Melekhova and E. I. Sarapultseva. Moscow. Akademiya Publ., 2010. 288 p. (in Russian).
9. *Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)*. In: Test No 202: *Daphnia* Sp. Acute Immobilisation Test. OECD Publishing, Paris, 2012. 25 p.
10. Mansoor Roomi S.Md., Ananta Narayanan B., Rohini S. A Novel Approach for Heart Beat Counting of *Daphnia pulex*. *Proc. of the IV-th ICCCNT. July 4-6, 2013, Tiruchengode, India*. 2013.
11. Egorova E.I., Efremova O.V., Kapyrina Yu. Yu. The changes in physiological parameters of phytoplankton and zoohydrobiota low-intensity microwave radiation. *Proc. of the IV-th International Conference «Elektromagnitnye Izlucheniya v Biologii: BIO-EMI-2008»*. Kaluga, Oct. 21-23, 2008. Eds. G.V. Chernova, O.P. Andebera. Kaluga. KGPU n.a. K. E. Tsiolkovsky Publ., 2008, pp. 48-40 (in Russian).
12. Kolupaev B.I., Andreev A.A., Samojlenko Yu.K. Optical method of heart rate registration in *Daphnia*. *Gidrobiologicheskij Zhurnal*. 1977, no. 3, pp. 19-22 (in Russian).
13. Leont'ev V.V. Study of heart pulsation of *Daphnia cucullata* G.O. Sars, 1862 in tested solutions. *Proc. of the Intern. Sci. and Practical Conf. «Modern Directions of Theoretical and Applied Research, 2013»*. Odessa. 2013, v. 1, no. 38, pp. 11-16 (in Russian).

14. Usanov D.A., Skripal' A.V., Vagarin A.Yu., Potapov V.V., SHmakova T.T., Mosiyash S.S. Laser autodyne interferometry of dynamic parameters of biological objects. *Pis'ma v ZhTF*. 1998, v. 24, no. 5, pp. 39-43 (in Russian).
15. Podosinovikov N. P., Belyaev V. A., Dolgo-Saburov V. B. Research of inter-mediatory regulation of heart rate using an alternative test object *D. magna*. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2009, no. 6, pp. 49-52 (in Russian).
16. Kalenkov S.G., Kalenkov G.S., Karpilova M.A., Shtan'ko A.E. Registration of hyperspectral holograms of *Demodex* eye mite in the near-infrared range. *Medicinskaya Tekhnika*. 2018, no. 6, pp. 18-22 (in Russian)
17. Savina N.B., Uskalova D.V., Sarapultseva E.I. Using the MTT test to study the long-term effects of acute  $\gamma$ -irradiation in crustaceans *Daphniamagna*. *Radiatsiya i Risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Register)*. 2018, v. 27, no. 1, pp. 86-93 (in Russian).
18. Sarapultseva E.I. Biological effects of radiation exposure in lower crustaceans *Daphniamagna*. Analytical review. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2017, v. 57, no. 4, pp. 414-428 (in Russian).
19. Harris K.D.M., Bartlett N.J., Lloyd V.K. *Daphnia as an Emerging Epigenetic Model Organism*. Hindawi Publishing Corporation Genetics Research International. 2012, pp. 1-8.
20. Sarapultseva E.I., Dubrova Yu.E. The long-term effects of acute exposure to ionising radiation on survival and fertility in *Daphniamagna*. *Environmental Research*. 2016, v. 150, pp. 138-143.
21. Sarapultseva E.I. *Direct and remote effects of radiation exposure in protozoa and crustaceans*. Dr. of Biol. Sci. diss. Obninsk: IATE NIYaU MIFI. 2015. 218 p. (in Russian).
22. Sarapultseva E.I., Melekhova O.P., Kossova G.V., Igolkina Yu.V., Alekseeva N.A. A free radical reactions *in vivo* in *Daphnia* irradiation in low doses. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2014, v. 54, no. 3, pp. 305-308 (in Russian).
23. Sarapultseva E.I., Ryabchenko N.I., Igolkina Yu.V., Ivannik B.P. Use of cellular biochemical method for *in vivo* biotesting of radiation pollution of the environment. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2013, v. 53, no. 6, pp. 634-638 (in Russian).

#### Authors

Sarapultseva Elena Igorevna, Professor, Dr. Sci. (Biology)

E-mail: helen-bio@yandex.ru

Morozova Alexandra Olegovno, Master's Course Student

E-mail: Sashkaa95@yandex.ru

Kolesnikova Nataliya Igorevna, Master's Course Student,

E-mail: natasha442707245@mail.ru

Savina Nataliya Borisovna, - Master's Course Student

E-mail: nsavina15@yandex.ru

Uskalova Dariya Vadimovna, Junior Researcher, Cand. Sci. (Biology)

E-mail: uskalovad@mail.ru

Ustenko Kseniya Vadimovna, PhD Student

E-mail: ksustenko@yandex.ru