

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ БЕЗНИКОТИНОВОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННОЙ СИГАРЕТЫ МЕТОДОМ ALLIUM-TEST

Белова М.Ю.

г. Ишим Тюменской обл., МАОУ «СОШ №4», 11 класс

Руководитель: Быкова С.В., г. Ишим Тюменской обл., МАОУ «СОШ №4», учитель биологии

Данная статья является реферативным изложением основной работы. Полный текст научной работы, приложения, иллюстрации и иные дополнительные материалы доступны на сайте VI Международного конкурса научно-исследовательских и творческих работ учащихся «Старт в науке» по ссылке: <https://school-science.ru/6/1/37558>.

В данной работе рассматривается проблема использования электронных сигарет учащимися среднего и старшего школьного возраста.

Электронные сигареты были созданы как альтернатива курению табачных изделий для людей, желающих отказаться от вредной привычки. Но в последние годы это изобретение стало модным гаджетом среди молодёжи, способствовало рождению новой субкультуры – вейпинга. Рекламные кампании представляют его как абсолютно безвредное хобби, привлекая этим людей, которые никогда не курили, в том числе школьную молодёжь и подростков. Более того, многие родители считают его безобидным развлечением своих детей. Мнения учёных и медиков по поводу безопасности электронных сигарет не однозначны. Эксперты ВОЗ отмечают потенциальную опасность курительных смесей и ограничивают их применение лицами, не достигшими 18 лет и беременными женщинами [5].

Цель работы: определить потенциальную степень цитотоксичности безникотиновой смеси для электронной сигареты.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить литературные источники по теме исследования и интернет-ресурсы;
2. Найти необходимое лабораторное оборудование и техническое обеспечение исследования;
3. Провести экспериментальную часть;
4. Провести анализ полученных результатов и сделать заключение о цитотоксичности и мутагенной активности безникотиновой смеси для электронных сигарет.

Объект исследования: клетки корневой меристемы Allium sera.

Предмет исследования: вероятность цитотоксического воздействия безникотиновой смеси для электронной сигареты на клетки корневой меристемы Allium sera.

Рабочая **гипотеза:** безникотиновые смеси для электронных сигарет являются по-

тенциальными цитотоксичными факторами химической природы.

Методы, используемые в работе:

1. Анализ литературных источников.
2. Allium test .
3. Скрининг-тест.
4. Световая микроскопия.
5. Статистическая обработка результатов.
6. Расчет митотических индексов.
7. Анализ полученных результатов.

1. Обзор литературы

Прежде чем провести эксперимент мы изучили литературные источники и интернет-ресурсы по теме исследования.

Электронная сигарета – электронное устройство, создающее высокодисперсный аэрозоль (пар), предназначенный для ингаляции (вдыхания). Устоявшиеся термины процесса использования электронных сигарет: парение или вейпинг. Не смотря на то, что изобретение в активном использовании находится всего около 10 лет, на сегодняшний день в мире продаётся уже более 500 марок устройств, предназначенных для «парения», и почти 8000 видов жидкостей с никотином и без.

Очевидным фактом является то, что действие на организм зависит и от типа конкретного парогенератора и от состава жидкости, которым его заправляют [10].

В работе был использован парогенератор без резервуара для жидкости, которая капается непосредственно на фитиль из хлопка. Батарейный блок устройства литий-ионного типа, 2 спирали испарителя выполнены из кантала – сплава железа (70%), хрома (20–30%) и алюминия (4–7%). Устройство работает при нажатии и удерживании кнопки. В этих устройствах напряжение с аккумулятора подаётся напрямую на испаритель, без контролирующих ток элементов. Устройства не имеют ограничений по сопротивлению спиралей испарителя, в них не предусмотрена защита от короткого замыкания, перегрева. Мы выяснили, что

при нагреве спирали из кантала образуются окись алюминия и ржавчина. Из-за процессов окисления могут образовываться твердые частички размером 1–10 микрометров, которые могут попасть в самые отдаленные части дыхательной системы. В силу высокого сопротивления кантала спираль нагревается быстро и может выдавать большие объёмы пара, при этом всё устройство сильно нагревается [9].

В работе мы использовали безникотиновую ароматическую смесь, состоящую из пропиленгликоля, глицерина и фруктово-ванильного пищевого ароматизатора.

Каждый отдельно взятый компонент смеси является безопасным и разрешенным для широкого использования в пищевой и фармацевтической промышленности, при изготовлении косметических средств. Но врачи не отрицают возможность того, что даже относительно безопасные курительные компоненты, входящие в состав пара, могут нанести организму человека существенный вред. О достоверных результатах влияния на организм можно будет говорить только через несколько десятков лет. Но ряд исследований в этом направлении уже проведён и есть определённые результаты.

Недавние исследования швейцарского научного центра Karlstad University установили, что повышенная концентрация одного из компонентов смесей для e-сигарет – пропиленгликоля в воздухе помещений, приводит к дисфункции дыхательной и иммунной систем человеческого организма.

Ученые из Национальной Лаборатории имени Лоуренса говорят, что при разложении компонентов курительных смесей выделяется большое количество веществ, потенциально опасных для организма человека. Термическое разложение содержащихся в жидкости пропиленгликоля и глицерина приводит к высвобождению токсичных веществ – акролеина и формальдегида. Акролеин раздражает слизистые оболочки глаз и дыхательных путей, вызывает слезотечение, имеет мутагенные свойства. Формальдегид, помимо перечисленного, еще и оказывает воздействие на центральную нервную систему [7].

Одно из таких исследований провели врачи из Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Был проведён генотоксикологический тест на крысах. Экспериментальные животные в течение четырёх минут ежедневно получали в заправочной камере безникотиновую жидкость в виде пара. Крыс выводили из эксперимента небольшими группами в три срока: через 7, 30, 60 дней. Контрольной группе

пар не подавали. После выхода из эксперимента животных усыпляли, анатомировали и изучали морфологические и гистологические изменения органов дыхания. У крыс, получавших пар в течение 60 дней, были обнаружены воспаления бронхов, жидкость в лёгких и отёк межальвеолярных перегородок. У крыс, получавших пар в течение 7 дней, была констатирована дыхательная недостаточность. По сравнению с контрольной группой показатели были хуже на 34%. На 60-й день эксперимента результат ухудшился до 39%. На основании полученных результатов можно констатировать, что ингаляция аэрозоля безникотиновой жидкости для электронных сигарет оказывает негативное влияние на лёгкие крыс.

Ученые из Университета штата Коннектикут выяснили, что пар от электронных сигарет может привести к повреждению ДНК. Специалисты изготовили с помощью 3D-принтера микрофлюидную систему, которая позволила смоделировать воздействие химических веществ на биополимеры (белки и ДНК), содержащиеся в клетках человека. На этих искусственных «лёгких» было проверено влияние сигаретного дыма и пара от вейпа. Повреждения нуклеиновых кислот регистрировали с помощью электрохемилюминисцентных детекторов. Ученые выяснили, что химикаты, растворенные в жидкости, вступали в реакции, катализируемые ферментами, что приводило к образованию продуктов, способных воздействовать на ДНК. При этом даже электронные сигареты с жидкостью без никотина оказывали такое же вредное воздействие, как и обычные сигареты [4].

В апреле 2017 года в журнале *Chemical Research in Toxicology* была опубликована статья, в которой сообщалось о том, что пары от электронных сигарет активируют в легочных тканях гены, связанные с окислительным стрессом.

Таким образом, изучив литературу и интернет-ресурсы, мы узнали, что модное увлечение вейпингом нельзя однозначно назвать абсолютно безвредным. Мнения специалистов по отношению к электронной сигарете не однозначны. Но в любом случае необходимы масштабные и всесторонние исследования, которые потребуют немало времени. Мы не ставили перед собой глобальных целей. Необходимо было проверить наличие цитотоксического воздействия любой степени на живые клетки. Для этого необходимо было выбрать методику, которая была бы доступной для проведения исследования в условиях школы и одновременно достаточно эффективной.

2. Оценка цитотоксичности безникотиновой жидкости для электронной сигареты методом *Allium*-test

2.1. Методика исследования

Для изучения цитотоксичности *безникотиновой ароматической смеси* был выбран *Allium test*, который рекомендован экспертами ВОЗ как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды. Результаты, полученные с его помощью, хорошо коррелируют с результатами тестов на клетках млекопитающих и человека. *Allium test* является простым, экономичным, краткосрочным и достаточно чувствительным, так как на нем можно регистрировать все типы генетических повреждений: геномные, хромосомные, генные. Он позволяет выявлять как мутагены, непосредственно повреждающие ДНК, так и промутагены, то есть факторы, генетически безопасные, но приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в организме. С помощью *Allium test* можно оценить воздействие на живые организмы различных факторов среды: физических, химических и биологических. При сравнении мутагенной активности химических загрязнителей, определённых в других токсикогенетических тестах с аналофазным методом установлено, что его чувствительность высока и составляет 82 %.

[6] Объектом исследования в данном тесте является меристема корешков лука – севка–*Allium cepa* сорта Штутгартен-Ризен.

Перед генетическим анализом проводится первичный скрининг-тест, который сразу показывает, обладает ли изучаемый фактор выраженной биологической активностью и оказывает токсический эффект. Основным и наиболее важным макропараметром является рост корней. Если под действием изучаемого фактора происходит значительное угнетение роста корней по сравнению с контролем, то отмечают его токсический эффект. В случае значительного прироста корней, говорят о стимулирующем воздействии. Но помимо корневого прироста могут рассмотрены и другие параметры:

1. Тургесценция. Твёрдость кончиков корней связана со степенью токсичности фактора. При высокой токсичности тургесценция падает, что может привести к гибели корней.

2. Изменение цвета. Кончики корней под действием фактора могут приобретать коричневую окраску.

3. Форма корней. Под воздействием изучаемого фактора может происходить разбухание корней или их искривление [6].

Митозмодифицирующий эффект оценивают путём сравнения величин митотического и фазных индексов опытных вариантов с контрольным [7].

Обозначение индекса	Характеристика	Расчет индекса
M_i	Митотический индекс – процент делящихся клеток от общего числа проанализированных клеток	$M_i = \frac{P + M + A + T}{N} 100\%$
P_i	Профазный индекс – процент клеток в профазе митоза от общего числа проанализированных клеток	$P_i = \frac{P}{P + M + A + T} 100\%$
M_i	Метафазный индекс – процент клеток в метафазе митоза от общего числа проанализированных клеток	$M_i = \frac{M}{P + M + A + T} 100\%$
A_i	Анафазный индекс – процент клеток в анафазе митоза от общего числа проанализированных клеток	$A_i = \frac{A}{P + M + A + T} 100\%$
T_i	Телофазный индекс – процент клеток в телофазе митоза от общего числа проанализированных клеток	$T_i = \frac{T}{P + M + A + T} 100\%$

Митотический индекс позволяет определить степень воздействия изучаемого фактора на деление клетки, а величина фазных индексов позволяет определить на какой стадии происходят наиболее существенные изменения.

Потенциальный мутагенный эффект определяется по изучению поведения хромосом во время деления на микропрепаратах [8].

2.2. Материалы и оборудование

Allium сера имеет в диплоидном наборе 16 хорошо прокрашиваемых хромосом. Продолжительность клеточного цикла составляет примерно 17–18 часов. В течение суток наблюдается два пика митотической активности: 13ч и 23ч. Митотический индекс может колебаться в разных корнях одного растения, но усреднённые данные являются достаточно устойчивыми. Для исследования были выбраны луковицы диаметром 1,5–2 см, без повреждений и проростков [6] (Прил. 1, рис. 1).

Материалом для исследования стала жидкость с фруктово-ванильным ароматом «Яблочный пирог», не содержащая никотина. Состав жидкости указан на ёмкости объёмом 120мл: пропиленгликоль – 70%, глицерин – 30%, пищевые ароматизаторы, но нет информации о их типе и количестве. Жидкость имеет сладкий фруктовый запах. На ёмкости с жидкостью указан производитель – индивидуальный предприниматель из г.Твери, дата изготовления, срок годности, условия хранения и рекомендуемая мощность парогенератора и предостережение для использования лицами, не достигшими 18 лет, беременными и кормящими женщинами, людям, подверженным аллергическим реакциям (Прил. 1, рис. 2).

В работе был использован парогенератор типа RDA, котором нет резервуара для жидкости и она капается непосредственно на фитиль из хлопка. Батарейный блок устройства литий-ионного типа, 2 спирали испарителя выполнены из кантала— сплава железа (70%), хрома (20–30%) и алюминия (4–7%). Сила тока 30А, мощность – 40 Ватт. Устройство работает при нажатии и удерживании кнопки (прил. 1, рис. 3).

Жидкость была использована в двух вариантах опыта:

1. растворена в дистиллированной воде до концентрации 0,02% – (РЖ);

2. полученный с помощью испарителя аэрозоль был растворён в дистиллированной воде до той же концентрации – (РА).

Кроме посадочного материала и изучаемого фактора было подготовлено оборудование: пробирки и лабораторные штативы,

чашки Петри, мерные цилиндры, бюксы, пипетки, спиртовка, предметные и покровные стёкла, цифровой микроскоп.

Химические реактивы:

1. Фиксатор Кларка для фиксации корешков;

2. Этиловый спирт 70% для промывания материала после фиксации и длительного хранения;

3. 2% ацетоорсеин для окрашивания корешков;

4. Уксусная кислота 45% для приготовления препаратов.

2.3. Проведение и результаты исследования

При проведении экспериментальной части исследования был использован модифицированный вариант теста, при котором луковицы помещаются непосредственно в исследуемый раствор без предварительного проращивания корешков. Поскольку при нагревании смеси в парогенераторе её химический состав изменяется, то цитотоксичность определялась в зависимости от формы поступления в организм. Поэтому луковицы проращивались по стандарту Allium-тест в трёх вариантах:

1) раствор жидкости в дистиллированной воде 0,02% – (РЖ);

2) раствор аэрозоля, собранного от включенной электронной сигареты, той же концентрации – (РА);

3) контроль – дистиллированная вода – (К).

Концентрация растворов обусловлена количеством смеси, используемом при однократной заправке устройства для получения «пара»– 2мл на 100мл дистиллированной воды (Прил. 1, рис.4–6).

Для каждого варианта использовали повторности в соответствии с рекомендациями современного стандарта на проведение экспериментов по методу Allium test (Прил.1. Рис.1–3) На пятый день корешки трёх луковиц срезались под основание и подвергались исследованию на токсическое, митозмодифицирующее и мутагенное воздействие исследуемого фактора на корневую меристему [6].

2.3.1. Определение токсичности безникотиновой смеси

Для оценки токсического действия определяли длину корней и заносили в таблицу. Всего была измерена длинна 30 корешков из каждого варианта. Величина корневого прироста является очень чувствительным показателем токсичности вещества и коррелирует с показателями микроскопических исследований. Кроме того токсичность отслеживается по внешнему виду корешков.

[6] При визуальной оценке внешнего вида корней были отмечены следующие отличия вариантов опыта от контроля:

1. Корни, выросшие на РЖ не изменили цвета и формы в сравнении с К. Была отмечена только меньшая длина и среднее количество корней 1 луковицы.

2. Корни, выросшие на РА, имели слегка желтоватый оттенок, искривлённую форму, заметно отличались меньшей длиной и средним количеством корней 1 луковицы. Пониженная тургесцентность была отмечена позже, при изготовлении давленных препаратов. Кончики корней подвергались мацерации значительно легче, чем в других вариантах опыта.

Корневой прирост оценивали тремя способами: измеряли среднюю длину корней, общую длину и их количество в каждом варианте опыта. (Прил.1, Диаграммы 1–3) Величина корневого прироста контрольного и опытных вариантов представлена в табл. 1.

проанализированных на препарате клеток. Было приготовлено и изучено по 10 препаратов в контроле и каждом варианте опыта. Под микроскопом просматривали в среднем около 5500–6100 клеток на каждый вариант (по 550–610 на микропрепарат). Среди них подсчитывали количество делящихся клеток, которые находились на разных стадиях митоза и число интерфазных клеток, определяли величину митотического индекса для каждого варианта опыта и контроля (Прил. 2, табл. 1–3).

В ходе исследования было отмечено, что раствор жидкости даёт повышение митотического индекса в обоих вариантах опыта по сравнению с контролем: 19% на аэрозоле и 17% на жидкой смеси. Таким образом, безникотиновая ароматизированная жидкость для электронных сигарет проявляет индуцирующий эффект. Но при этом показатели величины корневого прироста оказались в обратнопропорциональной за-

Таблица 1

Корневой прирост	Контроль	Раствор жидкости	Раствор аэрозоля
мм	38,1	24,47	18,3
%	100,00	64	43
Общая длина корней, мм	1143	734	549
Среднее число корней 1 луковицы	31	23	12

Опираясь на общие результаты скрининг-теста можно сделать вывод о токсичности изучаемого фактора, причём негативное воздействие проявилось в большей степени в аэрозольной форме. Искривление и изменение окраски корней в этом варианте говорит о том, что в аэрозольной форме присутствуют иные, более токсичные соединения, которые могли появиться при нагревании жидкости в парогенераторе.

2.3.2. Определение митозмодифицирующего и генотоксического эффекта

После измерения корешки заливались фиксатором Кларка и выдерживались в нём в течение двух суток. Затем были промыты в 70% спирте. После окраски ацетоорсеином были изготовлены давленные препараты, которые изучались методом светового микроскопирования при увеличении $\times 900$ раз в искусственном проходящем свете. С помощью цифровой камеры сделаны снимки препаратов.

Показателем митозмодифицирующего действия фактора является митотический индекс. Он определяется как отношение числа делящихся клеток к общему числу

висимости от митотического индекса и имеют значение ниже контрольного (Прил. 2, диаграммы 1, 2).

Для того чтобы определить причины такого несоответствия и изменения митотической активности, анализировали продолжительность каждой фазы митоза и определяли фазные индексы. Проводили сравнение долей различных фаз в контрольном и опытных вариантах (Прил. 2, диаграммы 1, 3). Выявили, что в обоих вариантах опыта наблюдается снижение доли профазы и одновременно с этим незначительное увеличение доли метафазы, анафазы и телофазы. Сокращение времени профазы приводит к нарушению формирования хромосом и веретена деления. Метафаза является самой чувствительной стадией в митотическом цикле к воздействию стресса. Увеличение доли метафазы приводит к задержке расхождения хромосом. В варианте опыта на растворе аэрозоля наблюдается увеличение доли анафазы, что может быть вызвано нарушением работы веретена деления и в последствии приводит к неравномерному распределению наследственного материала в дочерние клетки. Таким образом на основании полученных результатов

можно сделать вывод о цитотоксичности изучаемой смеси [2].

Проведённый цитогенетический анализ патологий митоза выявил увеличение количества нарушений под действием смеси в обоих вариантах опыта, но эти изменения в большей степени проявляются в варианте с раствором аэрозоля. Были выявлены следующие группы аномалий:

I. Патологии митоза, связанные с нарушением структуры хромосом:

1. укорочение и утолщение хромосом, что может быть связано с нарушением спирализации и деспирализации хромосом;

2. единичная и массовая фрагментация хромосом, приводящая к образованию микроядер или изменению количества ДНК в дочерних клетках;

3. хромосомные мосты, являющиеся следствием фрагментации, приводящие к генотипической разнородности дочерних клеток, приводят к удлинению завершающих стадий митоза и задерживают цитокинез;

4. Отставание и забегание хромосом при расхождении к полюсам, возникающее при нарушении структуры хромосомы в области центромеры, приводящее к образованию микроядер;

5. набухание хромосом.

II. Патологии митоза, связанные с повреждением митотического аппарата: на препаратах были обнаружены клетки с ассиметричным митозом, когда идёт непропорциональное развитие противоположных полюсов деления, приводящее к неравномерному распределению хромосом между дочерними ядрами. В последствии образуются гигантские клетки с гипо и гиперплоидными ядрами.

III. Нарушение цитотомии, приводящее к образованию двуядерных и безъядерных клеток [1] (Прил. 3).

Обнаруженные патологии объясняют как изменение продолжительности отдельных фаз, так и несоответствие высокого митотического индекса и низкой величины корневого прироста. Уменьшение доли профазы приводит к нарушению структуры хромосом и структур веретена деления, что впоследствии приводит к увеличению доли метафазы и анафазы в варианте с раствором аэрозоля. Цитотоксичность жидкой смеси несколько ниже. Возможно в аэрозоле повышено содержание токсичных компонентов, образовавшихся при переходе смеси из жидкого состояния в аэрозоль, например, акролеина, формальдегида, соединений алюминия и железа. Воздействие токсических факторов вызывает в клетках по мнению учёных окислительный стресс.

В результате чего на ранних стадиях воздействия негативного фактора преобладают процессы распада. Продукты деградации белков и липидов обладают свойствами активировать или ингибировать процессы обмена веществ и оказывать влияние на рост и морфогенез растений, тормозят биосинтез белка, процессы репликации ДНК. Возможно продукты распада стимулировали процессы деления клеток в обоих вариантах опыта, но не обеспечили условия для полноценного прохождения всех стадий митоза. Это и привело к несоответствию высокого митотического индекса низким показателям корневого прироста. Кроме того нарушение метаболизма или серьёзные изменения в структуре ДНК, вызванные действием токсических веществ, включают механизм апоптоза, который приводит к разрушению повреждённых клеток и снижению корневого прироста в варианте опыта с раствором жидкой смеси. Повышение интенсивности повреждающего фактора приводит к развитию некроза, о начальных стадиях которого можно судить по снижению тургесцентности кончиков корней и желтоватому оттенку в варианте с аэрозолем. Процесс некроза был отмечен и на микропрепаратах [3].

Таким образом, в результате проведённых исследований можно сделать вывод о цитотоксичности безникотиновой жидкости для е-сигареты.

2.3.3. Статистическая обработка результатов

Полученные данные о величине корневого прироста, митотических и фазных индексов подвергались статистической обработке по формулам для малых выборок [6].

С помощью онлайн-калькулятора рассчитывали средние арифметические величины, отклонения от среднего и квадраты отклонений для контроля и опытных вариантов.

Достоверность для всей генеральной совокупности устанавливали при помощи средней ошибки m . Величина средней ошибки находится в обратной зависимости от n . Таким образом, чем больше повторностей опыта исследуется, тем меньше ошибка X .

$$m = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где σ – среднее квадратичное отклонение.

Среднее квадратичное отклонение σ характеризуется разнообразием признаков. Оно учитывает отклонение от среднеарифметической каждой варианты. Поэтому σ является наилучшим показателем разнообразия признака.

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Средние арифметические, характеризующие действие изучаемого вещества на митотическую активность клеток меристемы *Allium* сера, рассчитаны для небольшого числа повторностей.

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots}{n} = \frac{\sum X}{n}$$

В табл. 2 все средние значения приведены с величиной их ошибок.

вариантах опыта и A_i в варианте с раствором аэрозоля находятся в зоне значимости. Только показатели M_i для аэрозоля, A_i и T_i для жидкой смеси находятся в зоне неопределённости. На основании этого можно сделать вывод о достоверной значимости отличий, полученных при сравнении контрольного и опытных вариантов.

Выводы

1. Изучаемая жидкость для электронной сигареты токсична.
2. Изменяет величину митотического индекса и вызывает нарушение соотноше-

Таблица 2

Величина	Контроль	Аэрозоль	Жидкость
Корневой прирост, мм	38,1±1	24,5±1,8	18,3±0,8
M_i	12,5±0,15	16,7±0,4	18,5±0,3
P_i	61,5±0,4	48,5±0,9	49,5±0,6
M_i	12,5±0,1	16,7±0,4	18,5±0,3
A_i	9,1±0,4	16,7±0,6	13,6±0,4
T_i	11,3±0,1	14,9±0,9	18,6±0,9

Затем сравнивали рассчитанные средние арифметические значения индекса (показателя) контрольного и опытного вариантов. Средние арифметические величины двух сравниваемых групп, даже взятых из одной генеральной совокупности, всегда могут в какой-то мере отличаться друг от друга. Чтобы проверить, являются ли различия достоверными, или же это различие случайно, проводили расчет t-критерия Стьюдента.

Нахождение показателя достоверности разницы осуществляется в несколько этапов.

Вычисляется число степеней свободы

$$v = n - 1.$$

t – критерий Стьюдента рассчитывали по формуле

$$td = \frac{\bar{X}_0 - \bar{X}_k}{S_d},$$

где X_0 – среднее арифметическое опытного варианта; X_k – среднее арифметическое контрольного варианта; S_d – ошибка отклонения, которая определяется при $n_1 = n_2$.

$$S_d = \sqrt{(m_0^2 + m_k^2)}$$

Все расчеты, значения и графики приведены в приложении к работе (прил. 1, табл. 1, прил. 2, табл. 1–8). Значения t-критерия для корневого прироста, M_i , P_i в обоих

вариантах опыта, приводя к окислительному стрессу и последующей гибели клеток.

3. Вызывает изменения в структуре и поведении хромосом, приводя к хромосомным и геномным аномалиям, повышая риск возникновения мутаций.

4. Цитотоксичное и генотоксичное действие фактора зависит от формы воздействия, усиливаясь при нагревании в парогенераторе и переход е в аэрозольное состояние.

Заключение

В данной работе рассматривается проблема растущей популярности электронных сигарет среди учащихся среднего и старшего школьного возраста. Многие родители спокойно относятся к использованию электронной сигареты, считая её безобидным занятием. Кроме того как сами устройства, так и многообразные жидкости для их заправки не сертифицированы, зачастую покупаются в интернет-магазинах по низкой цене. Поэтому их качество стоит взять под сомнение. Эксперты ВОЗ бьют тревогу, предупреждая о потенциальной опасности использования электронной сигареты, особенно для молодых людей. Но не смотря на появляющиеся результаты научных исследований, доказывающие это, субкультура набирает обороты.

Целью исследования было определение потенциальной степени цитотоксичности безникотиновой смеси для электронной сигареты.

Эксперимент по определению потенциальной цитотоксичности и генотоксичности был поставлен по стандарту Allium-test в 3 вариантах. Исследуемый фактор брали в 2 формах: в виде раствора самой жидкости и раствор аэрозоля. Результаты вариантов опыта сравнивали с контролем.

Токсичность определяли по величине корневого прироста, среднему количеству корней 1 луковицы, общей длине всех корней выборки и их внешнему виду. Результаты показали угнетение роста в обоих вариантах опыта по сравнению с контролем, причём в большей степени в варианте с раствором аэрозоля.

Цитотоксичность определяли по величине митотического и фазных индексов. Для этого готовили давленные препараты корневой меристемы Allium-сега. Токсический эффект был подтверждён на клеточном уровне. Изучаемый фактор не зависимо от формы воздействия на клетки вызывает индуцирующий митотическое деление клеток эффект. При изучении микропрепаратов было выявлено, что в ходе митоза изменяется нормальное соотношение фаз, был выявлен ряд нарушений, связанных с изменением структуры хромосом, формированием и функциями митотического аппарата, приводящий в последствии к гибели клеток и возрастанию риска проявления хромосомных и геномных мутаций. Расчет критериев Стьюдента для митотического и фазных индексов показал достоверность полученных результатов. На основании чего можно сделать вывод о цитотоксичности и генотоксичности изучаемой безникотиновой жидкости для электронной сигареты.

Таким образом, в результате исследования была подтверждена гипотеза о потенциальном вредном воздействии изучаемой

жидкости на живые объекты, приводящем к нарушению жизнедеятельности и повреждению наследственного материала. Не случайно использование даже, на первый взгляд, безобидной жидкости без никотина ограничено для людей, не достигших 18 лет, так как в подростковом и юношеском возрасте митозы обеспечивают активный рост и развитие организма.

Своим исследованием мы хотели обратить внимание молодых людей на разумность выбора своих увлечений, какими бы популярными они ни были.

Список литературы

1. Алов И.А. Патология митоза // Вестн. АМН СССР. – 1965. – № 11. – С. 58–66.
2. Песня Д.С., Романовский А.В. Митоз в растительной клетке: норма и патология: научно-практическое пособие. – М.: JRE – ИПЭ им. В.А. Котельникова РАН, 2010. – С. 92
3. Прохорова И.М. и др. Оценка митотоксического и мутагенного действия факторов окружающей среды, 2003. – С. 18.
4. Электронные сигареты: оценка безопасности и рисков для здоровья / Н.С. Антонов, Г.М. Сахарова, В.В. Доницова [и др.] // Пульмонология. – 2014. – № 3. – С. 123–127.
5. Электронные системы доставки никотина: доклад ВОЗ [Электронный ресурс].— М., 2014. – Режим доступа: URL: http://apps.who.int/gb/fctc/PDF/cop6/FCTC_COP6_10-ru.pdf, свободный. – Загл.с экрана.
6. Allium_test: Википедия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://ru.wikibooks.org/wiki/Allium_test, свободный. – Загл.с экрана.
7. Kryszywiepiery_dokazali_vried_eliektronnykh_sighariet [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://life.ru>, свободный. – Загл.с экрана.
8. Митотический индекс: Википедия.[Электронный ресурс].— Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/>, свободный. – Загл.с экрана.
9. vreden-li-vajp [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://sovets.net/7471-vreden-li-vajp.html>, свободный. – Загл.с экрана.
10. Vape-reviews [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://vape-reviews.com/ru>, – свободный. – Загл. с экрана.