

УДК 574:539.16.047+ 575.826+599.32

ЭФФЕКТЫ МАЛЫХ ДОЗ: АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ У ГРЫЗУНОВ ВАГИЛЬНЫХ ВИДОВ ИЗ ЗОНЫ ЛОКАЛЬНОГО РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

¹Григоркина Е.Б., ¹Оленев Г.В., ²Пашнина И.А.

¹Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург,

e-mail: grigorkina@ipae.uran.ru;

²Институт иммунологии УрО РАН

Проведено изучение адаптивного ответа (АО) по микроядерному тесту в клетках костного мозга грызунов вагильных видов (малая лесная мышь, полевая мышь) из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа) и фоновых участков. Выявлена сходная динамика формирования АО у животных из парных выборок (ВУРС-контроль), что связано с миграциями грызунов на узкой протяженной территории ВУРСа, которые существенно снижают возможность закрепления адаптивных приспособлений в чреде поколений у животных с высокой миграционной активностью.

Ключевые слова: Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС), малые дозы, адаптивный ответ (АО), микроядерный тест, грызуны, миграция

EFFECTS OF SMALL DOSES: ADAPTIVE RESPONSE IN RODENTS OF VAGIL SPECIES FROM THE ZONE OF LOCAL RADIOACTIVE CONTAMINATION

¹Grigorkina E.B., ¹Olenev G.V., ²Pashnina I.A.

¹Institute of Plant & Animal Ecology, Ural Branch RAS, Ekaterinburg, e-mail: grigorkina@ipae.uran.ru;

²Institute of Immunology, Ural Branch RAS

The adaptive response (AR) by micronuclei test in bone marrow cells of rodents with high migration activity (pigmy wood mouse, field mouse) from the Eastern Urals Radioactive Trace (EURT) zone and control areas was investigated. Similar dynamic of AR formation in mice from both the EURT and adjacent areas was revealed. We conclude, that such adaptive reaction is connected with rodents' migrations in the narrow and extended EURT zone, which essentially decreases the probability that certain adaptations changes will be fixed and inherited in a series of generations of animals with high migration activity.

Keywords: Eastern Ural Radioactive Trace (EURT) zone, small doses, adaptive response (AR), micronuclei test, rodents, migration

Проблема биологического действия малых доз радиации на животных и человека остается актуальной. Это связано с интенсивным развитием ядерной энергетики и аварийными событиями, последнее из которых произошло на японской АЭС «Фукусима» в марте 2011 г. В отличие от других радиоактивно загрязненных территорий, зона Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС, Челябинская обл.), сформировавшегося в 1957 г. в результате Кыштымской аварии на ПО «Маяк», представляет узкую протяженную территорию с резко падающим градиентом радиоактивного загрязнения. Здесь долговременную опасность представляет стронций-90, который имеет длительный (около 30 лет) период полураспада, депонируется в костной ткани позвоночных животных и является источником внутреннего облучения организма в малых дозах. Одним из проявлений действия малых доз радиации является феномен адаптивного ответа (АО) – механизм защиты клеток (тканей организма) от воздействия радиации (и других агентов химической и физической

природы) в высоких дозах после их предварительного облучения в малых дозах [6]. АО проиллюстрирован во многих работах на разных объектах – преимущественно, на системах *in vitro*, отличающихся реакциями на внешние воздействия от живых организмов. Исследования *in vivo* немногочисленны, подчас противоречивы, выполнены на лабораторных животных. В литературе отсутствуют данные по исследованию АО у мелких млекопитающих из природных популяций, обитающих в зонах радиоактивного загрязнения, хотя именно этот аспект может иметь принципиальное значение в изучении адаптаций животных к радиоактивной среде. Ранее нами [1] у обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus* Pallas), из зоны радиоактивного неблагополучия зарегистрирован АО (у особей из контрольной выборки АО не выявлен), который является доказательством завершенной генетической радиоадаптации, развившейся у животных в чреде поколений при длительном воздействии малых доз радиации. Успешной радиоадаптацией способствовали эколого-физиологические харак-

теристики вида – подземно-колониальный образ жизни и низкая миграция, что привело к изоляции поселения слепушонок в зоне радиоактивного загрязнения.

Цель настоящего исследования – изучение АО у грызунов вагильных видов, т.е. видов, характеризующихся высокой миграционной активностью, населяющих в зону ВУРСа и сопредельную территорию.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования – малая лесная мышь (*Sylvaeus uralensis* Pallas) и полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas) – наземные грызуны с высокой миграционной активностью. Участок отлова мышей расположен в 13 км от эпицентра взрыва к югу от оз. Бердениш на выровненной площадке с мелкобугристым рельефом, умеренным увлажнением, представлен разнотравно-крапивной ассоциацией, исходная плотность загрязнения ^{90}Sr – 18.5 МБк/м² (500 Ки/км²). Работа выполнена на однородных по функциональному статусу особях, отловленных в осенний период, когда популяция представлена незрелыми в год рождения сеголетками, функция которых пережить неблагоприятный зимний период с минимальными потерями. Эти зверьки характеризуются низкой интенсивностью процессов метаболизма и скоростью старения, самцы и самки не воспринимают друг друга как половые партнеры, половой диморфизм по большинству показателей не выражен. Контрольный участок (окрестности пос. Метлино) находится за пределами радиационного заповедника на расстоянии 10-12 км от импактного, характеризуются фоновым уровнем загрязнения.

Радиобиологический эксперимент на грызунах из природной среды проведен по схеме, представленной в работе [4]. Были сформированы группы сравнения: фон (ВУРС – контроль); D₁ (ВУРС – контроль) – облучены адаптирующей дозой (20 сГр);

D₂ (ВУРС – контроль) – облучены повреждающей дозой (2.0 Гр); D₁+D₂ (ВУРС – контроль) – подвергнуты воздействию γ -излучения (^{137}Cs) на установке ИГУР-1 (Россия) (мощность дозы 1.30 сГр/мин.) по схеме изучения АО – сначала адаптирующей (D₁), затем через 4 часа повреждающей (D₂) дозами. Для определения уровня цитогенетического повреждения по микроядерному тесту (МЯ) в полихроматофильных эритроцитах (ПХЭ) костного мозга зверьков забивали методом цервикальной дислокации на 7-е сутки после облучения. По данным [4] АО сохраняется до 2-х мес. после облучения. Мазки костного мозга готовили по стандартной методике. Во всех группах на каждую экспериментальную точку использовано не менее 5 особей. Общий объем выборок (ВУРС-контроль): *S. uralensis* – 27 и 22 особи, *A. agrarius* – 24 и 22 особи, соответственно. От каждого животного в препаратах проанализировано не менее 2000 ПХЭ для подсчета числа клеток с МЯ. Частота событий выражена в процентах. Межгрупповые различия оценены по t-критерию Стьюдента, при проверке статистических гипотез был принят 5%-й уровень значимости.

Величина АО рассчитана по формуле [4]:

$$R = N_1 + N_2 / N_{1+2}$$

где N₁ – выход ПХЭ с МЯ, индуцированных облучением в дозе D₁; N₂ – выход ПХЭ с МЯ, индуцированных облучением в дозе D₂; N₁₊₂ – выход ПХЭ с МЯ, индуцированных облучением в дозах D₁+D₂, использованы значения за вычетом спонтанной частоты ПХЭ с МЯ.

Результаты исследования и их обсуждение

Спонтанный уровень частоты ПХЭ с МЯ в интактных группах малой лесной мыши достоверно различался (p<0.05) (табл. 1).

Таблица 1

Выход полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге *S. uralensis* из зоны ВУРСа и сопредельного участка, облученных in vivo

Доза	Число животных	Количество		Процент	
	ВУРС контроль	анализированных ПХЭ	ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ M±m	ПХЭ с МЯ*
Фон	6	12000	552	4.6±0.8**	
	5	10000	280	2.8±0.7**	
D ₁	6	12000	576	4.8±0.7	0.2±0.7
	5	10000	320	3.2±0.8	0.4±0.8
D ₂	7	14000	1932	13.8±0.6***	9.2±0.6
	5	10000	1400	14.0±0.7***	11.2±0.7
D ₁ +D ₂	8	16000	1152	7.2±0.8***	2.6±0.8
	7	14000	938	6.7±0.7***	3.9±0.7

Примечание. В табл. 1 и 2: * – значения за вычетом спонтанной частоты ПХЭ с МЯ;

** – достоверность между фоновыми группами, p<0.05.

*** – достоверность между одноименными группами, p<0.05.

Облучение зверьков обеих групп адаптирующей дозой (D_1) практически не изменило значений показателя. Повреждающая доза (D_2) достоверно (в 3-5) раз увеличила процент выхода ПХЭ с МЯ в клетках костного мозга в обеих группах по сравнению с фоновыми значениями. В группах D_1+D_2 (ВУРС–контроль) зарегистрирован АО в костном мозге мышей – частота ПХЭ с МЯ по сравнению с таковой в варианте D_2 в одноименных группах была достоверно снижена (на 48% и 52%, соответственно). Во всех вариантах эксперимента различия в парных выборках незначимы. Рассчитанные по формуле величины АО для *S. uralensis* групп ВУРС–контроль составили 3.61 и 2.97, соответственно.

Аналогичную по динамике картину цитогенетического АО наблюдали у полевой мыши (табл. 2). Фоновые частоты ПХЭ с МЯ на сравниваемых участках также достоверно различались ($p<0.05$). Адаптирующая доза не изменила значений частоты ПХЭ с МЯ в обеих группах, в то время как воздействие в высокой дозе привело к значимому (в 2-4 раза) увеличению частоты ПХЭ с МЯ в клетках костного мозга. В варианте (D_1+D_2) обнаруженный АО количественно был не столь велик (33% в обеих группах) но достоверен. Величины АО для *A. agrarius* (ВУРС–контроль) составили 2.72 и 1.95, соответственно. Для сравнения, у лабораторных линейных мышей величина АО, оцененного в условиях данной методики, соответствовала 1.8 [4].

Таблица 2

Выход полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге *A. agrarius* из зоны ВУРСа и сопредельного участка, облученных *in vivo*

Доза	Число животных	Количество		Процент	
	ВУРС контроль	анализированных ПХЭ	ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ $M\pm m$	ПХЭ с МЯ*
Фон	5	10000	290	$2.9\pm 0.5^{**}$	
	5	10000	130	$1.3\pm 0.4^{**}$	
D_1	5	10000	300	3.0 ± 0.6	1.7 ± 0.7
	5	10000	170		0.1 ± 0.6 0.4 ± 0.7
D_2	6	12000	696	$5.8\pm 0.8^{***}$	
	5	10000	520	$5.2\pm 0.7^{***}$	2.9 ± 0.8 3.9 ± 0.9
D_1+D_2	8	16000	640	$4.0\pm 0.8^{***}$	1.1 ± 0.9
	7	14000	490	$3.5\pm 0.7^{***}$	2.2 ± 0.7

Обращает на себя внимание практически одинаковая способность к формированию радиационно-индуцированного АО в клетках костного мозга у животных обоих видов из зоны ВУРСа и фонового участка. Однако степень выраженности АО у лесной мыши была несколько выше, чем у полевой, что, возможно, обусловлено различиями в видовой радиочувствительности ($JD_{50/30}$: 7.0 ± 0.4 Гр и 10.0 ± 0.2 Гр, соответственно, $p<0.05$) [3]. Отметим, что средняя частота клеток с хромосомными aberrациями (ХА) в костном мозге грызунов в вурсовской выборке *S. uralensis* была также выше, чем у *A. agrarius* – $4.20\pm 1.25\%$ и $2.87\pm 0.37\%$, в контроле – $0.55\pm 0.28\%$ и $1.33\pm 0.39\%$, соответственно [8].

В работе [5] было показано, что через 20 лет после Кыштымской радиационной аварии, однократное облучение лесных мы-

шей с радиоактивно загрязненной и чистой территорий γ -лучами ^{60}Co в дозе 2 Гр вызвало увеличение процента клеток селезенки с хромосомными нарушениями на различную величину – 4.7% и 8.9% соответственно, что авторы связали с повышенной радиорезистентностью животных, развившейся по воздействию хронического облучения. При анализе разного рода показателей у животных, обитающих в зонах радиоактивного загрязнения, следует учитывать, что наряду с повреждающим воздействием, ионизирующего излучения индуцируют в популяциях адаптивные процессы. Согласно [7], радиоадаптация это феномен увеличения радиостойчивости особей, входящих в хронически облучаемые популяции к дополнительному облучению в высоких дозах. При этом отсутствие корреляции между общей радиочувствительностью и радиочувствительностью

хромосомного аппарата клеток указывает на сложность и неоднозначность процессов адаптации животных к хроническому облучению, а радиоустойчивость отдельной ткани организма вовсе не является показателем адаптации животных к облучению.

Близкие величины АО у зверьков обоих видов, выявленные нами на загрязненных и фоновых участках объясняются, прежде всего, миграциями животных. *S. uralensis* и *A. agrarius* отличаются высокой вагильностью, для них характерны сезонные миграции и лабильные типы пространственной структуры. Активные миграции лесных мышей связаны с неблагоприятными условиями существования: неполноценностью или дефицитом кормов и неравномерностью их распределения в природе, отсутствием надежных убежищ и усилением пресса хищников. Миграции обусловлены сложным комплексом составляющих, которые имеют наследственную природу и рассматриваются как элемент стратегии оптимальной приспособленности вида к сезонным изменениям окружающей среды [9]. По уровню миграционной активности и перемешивания населения мышевидных грызунов, зона ВУРСа, как и другие техногенные территории подобной конфигурации, принципиально ничем не отличается от фоновых. По данным разных авторов в природе миграции лесных и полевых мышей составляют от 800 м до 2,5 км. В условиях лабораторного вивария (в актографе) зверьки пробегают десятки километров в сутки. Поэтому на узкой и протяженной территории ВУРСа мыши за короткое время могут преодолевать значительные пространства, сопоставимые с поперечными размерами загрязненной зоны. Это приводит к формированию населения с меняющимся составом. Наши материалы, полученные в результате 4-х летнего массового мечения животного населения в зоне ВУРСа тетрациклиновой меткой [2] показали, что миграции за пределы зоны ВУРСа совершали грызуны разной экологической специализации, причем лесные и полевые мыши регистрировались на весьма значительном удалении от участков мечения, их доля в разные годы и сезоны отловов доходила до 30%. По радиоактивной метке (^{90}Sr – пожизненный естественный маркер) величина миграций варьировала от 17 до 40% [8].

Заключение

Таким образом, впервые на грызунах вагильных видов (*S. uralensis*, *A. agrarius*), обитающих в зоне локального радиоактивного загрязнения (ВУРС) и фоновых участков изучен радиационно-индуциро-

ванный АО. Показано, отсутствие достоверных различий по величине АО между группами (ВУРС-контроль) у обоих видов, однако у лесных мышей из зоны ВУРСа АО был более выражен, чем у полевых, что, возможно, связано с видовыми различиями в радиорезистентности. При этом установлена сходная динамика формирования АО в импактной и контрольной выборках, что в совокупности с данными массового мечения тетрациклином убедительно доказывает отсутствие изоляции населения мышевидных грызунов в зоне ВУРСа. Обобщение материалов по АО и миграциям животных свидетельствует, что в зоне ВУРСа проживает население мышевидных грызунов с меняющимся составом. При этом происходит (1) изменение генофонда за счет генных потоков, приносимых в зону загрязнения особями с чистых территорий; (2) вынос биологических эффектов на сопредельные территории, где возможно ожидать увеличения генетического разнообразия, индуцированного мутациями *de novo*. К примеру, нами [10] на основе анализа микросателлитной ДНК показан более высокий показатель генетического разнообразия, числа уникальных аллелей и аллельного разнообразия в выборке красных полевок с сопредельного с ВУРСом фонового участка по сравнению с этими параметрами в зоне ВУРСа и в географически удаленном (расстояние 220 км) контроле. Это значит, что прилегающие к Восточно-Уральскому заповеднику (собственно следу) территории (зона влияния ВУРСа) представляют собой уникальный полигон для оценки роли повышенной частоты мутаций в процессах эволюции природных популяций. Следовательно, миграции животных на узкой и протяженной территории ВУРСа существенно снижают возможность закрепления и передачи адаптивных изменений в чреде поколений, и являются основой передачи радиоиндуцированных эффектов на сопредельные территории. Так, активно перемещаясь, мыши «ускользают» от постоянного воздействия радиационного фактора, что, препятствует у них развитию радиоадаптации в чреде поколений. Напротив, вышеупомянутые нами обыкновенные слепушонки (*Ellobius talpinus*), характеризующиеся подземным образом жизни, низкой миграцией и более высокой, по сравнению с мышами радиочувствительностью ($\text{LD}_{50/30}: 5.0 \pm 0.7 \text{ Гр}$) [3], являются примером успешной радиоадаптации к радиоактивной среде в чреде поколений, о чем свидетельствуют признаки горемезиса по показателям системы гемопозза и наличие достоверного АО у зверьков из импактной выборки при

отсутствии АО у животных с контрольного участка [1].

Факт непостоянства населения грызунов следует учитывать в широком спектре исследований при анализе отдаленных последствий любого техногенного воздействия. Результаты исследования являются подспорьем для понимания сложных микроэволюционных процессов, происходящих в населении мелких млекопитающих в зонах локального техногенного загрязнения.

Список литературы

1. Григоркина Е.Б. Эффекты малых доз: адаптивный ответ у грызунов (*Ellobius talpinus* Pall.), обитающих в среде, загрязненной радионуклидами // Докл. РАН. – 2010. – Т. 430. – № 4. – С. 565-567.
2. Григоркина Е.Б., Оленев Г.В. Миграции грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа (радиобиологический аспект) // Радиационная биология. Радиэкология. – 2013. – № 1. – С. 76-83.
3. Григоркина Е.Б., Пашнина И.А. К проблеме радиоадаптации мелких млекопитающих (экологическая специализация вида, радиорезистентность, гемопоз, иммунитет) // Радиационная биология. Радиэкология. – 2007. – Т. 47. – № 3. – С. 371-378.
4. Заичкина С.И., Клоков Д.Ю., Розанова О.М. и др. Зависимость длительности сохранения адаптивного ответа в клетках костного мозга мышей от дозы гамма-облучения *in vivo* // Генетика. – 1999. – Т. 35. – № 9. – С. 1274-1279.
5. Ильенко А.И., Крапивко Т.П., Мажейките Р.Б., Смирнова О.В. Изучение влияния загрязнения ⁹⁰Sr биоценоза на популяцию лесных мышей // Проблемы и задачи радиэкологии животных. – М.: Наука, 1980. – С. 97-120.
6. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алешенко А.В. и др. Радиоиндуцированный адаптивный ответ у детей и влияние на него внешних и внутренних факторов // Радиационная биология. Радиэкология. – 1999. – Т. 39. – № 1. – С. 106-112.
7. Шевченко В.А., Померанцева М.Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. – М.: Наука. – 1985. – 279 с.
8. Ялковская Л.Э., Григоркина Е.Б., Тарасов О.В. Цитогенетические последствия хронического радиационного воздействия на популяции грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа // Радиационная биология. Радиэкология. – 2010. – Т. 50. – № 4. – С. 466-471.
9. Alerstam A., Hedenstrom A, Akesson S. Long-distance migration: evolution and determinants // *Oikos*. – 2003. – 103. – P. 247-260.
10. Rakinin S.B., Grigorkina E.B. Microsatellite DNA variation in populations of red vole inhabiting radioactively contaminated environment // 12-th Rodent et Spatium. Abstracts. Zonguldak, Turkiye. – 2010. – P. 29.