

УДК 577:599.323.4:57.084.1:539.1.047

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ТРАНСЛЯЦИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ “ЭФФЕКТЕ СВИДЕТЕЛЯ”

© 2020 г. В. В. Петушкова<sup>1,\*</sup>, И. И. Пелевина<sup>1</sup>, И. Н. Когарко<sup>1</sup>, Е. А. Нейфах<sup>1</sup>,  
Б. С. Когарко<sup>1</sup>, О. В. Ктиторова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

\*E-mail: pele@chph.ras.ru

Поступила в редакцию 16.09.2019 г.

После доработки 16.09.2019 г.

Принята к публикации 18.09.2019 г.

В работе приведены первые результаты исследований и наблюдения в рамках комплексного проекта по оценке радиационно-индуцированных “немишенных эффектов”. Дистанционный “эффект свидетеля” – наименее изученный с точки зрения проявлений и механизмов феномен, относящийся к “немишенным эффектам”. Международная лабораторная практика в области данного явления начиналась с демонстрации “эффекта свидетеля” на рыбах и иных аквакультурах. В нашем эксперименте у необлученных мышей, находившихся на протяжении 3 мес. в контакте с облученными (3 Гр) особями, выявлены признаки патологий, сходных с радиационно-индуцированными. Отмечались изменение поведенческих реакций, статистически значимая тенденция к уменьшению веса селезенки ( $r = -0.416$ ;  $p = 0.048$ ), повышению площади алопеции ( $r = -0.631$ ;  $p = 0.001$ ) и иные аномалии. Обсуждение возможных механизмов данного явления связывается авторами как с теорией радиотоксинов А.М. Кузина (1966), так и с трактовкой гипотез, исследуемых К. Мазерсил (Carmel E. Mothersill, 2010–2019). Высказывается предположение о важной роли производных липоперекисей в формировании изучаемого эффекта. Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований лучевого “эффекта свидетеля” с использованием молекулярно-клеточных методических подходов.

**Ключевые слова:** радиационно-индуцируемые “немишенные эффекты”, беспородные мышцы-самки, дистанционный “эффект свидетеля”, радиотоксины, биофотоны

DOI: 10.31857/S0869803120030108

Исследование направлено на изучение новых аспектов явления, известного в радиобиологии как “немишенные эффекты”, которые заключаются в способности передачи изменений от облученных клеток (т.е. клеток-мишеней для радиационного воздействия) к необлученным. В последние годы очередное открытие в области “немишенных эффектов” выявило “дистанционно индуцируемые эффекты свидетеля”, именуемые в зарубежных исследованиях “эффектами свидетеля на уровне организма” (radiation-induced inter-organism bystander effects). Было показано, что после воздействия радиации изменения и повреждения могут передаваться не только от клетки к клетке, но и от целого облученного организма к необлученному, включая высшие организмы и, предположительно, человека [1].

В настоящее время за рубежом проводятся систематические исследования в области “немишенных эффектов”. Большой вклад в развитие

направления принадлежит В.Ф. Моргану [2] и Д.Б. Литтлу [3]. На базе канадского университета Макмастер проводятся регулярные экспериментальные работы по изучению “эффекта свидетеля” *in vitro* и *in vivo* [1]. Именно с исследовательской группой К. Мазерсил (университет г. Макмастера) связаны первые успехи в области изучения дистанционно-индуцируемых радиационных “эффектов свидетеля”, передающихся между организмами. После проведения К. Мазерсил цикла исследований (2010–2019) на рыбах – радужной форели и *Danio Rerio* (Zebrafish), результаты которых окончательно подтвердили гипотезу о возможности передачи радиационно-индуцированных изменений от облученного организма к необлученному, было доказано, что с дистанционными “эффектами свидетеля” необходимо считаться при оценке ущерба и рисков облучения в малых дозах [4, 5]. Первоначально выявленные на одноклеточных эти явления вслед

за тем были показаны на различных беспозвоночных и позвоночных животных [4–8].

Разработки в области “немишенных эффектов” в последние годы ведутся в различных странах мира: Канада, США, Великобритания, Германия, КНР, Япония, Франция, Финляндия, Индия, Южная Корея, Иран. Возросший интерес к различным проявлениям “немишенных эффектов” связан с необходимостью оценки рисков и последствий техногенных катастроф в тех районах, где речь идет о длительном облучении биологических объектов в малых дозах. После аварии на атомной станции Фукусима к исследованиям активно подключилась Япония и, сравнительно недавно, Южная Корея. [9, 10]. В недавние годы имела место практика международных экспедиций, проводимых с целью получения и обработки материалов для изучения “немишенных эффектов” в регионах, подвергшихся радиационному загрязнению, в том числе – Чернобыльской зоны [11].

Говоря о российских исследованиях, вплотную подошедших к изучению дистанционно-индуцируемых радиационных “немишенных эффектов”, передающихся между организмами, необходимо прежде всего упомянуть гипотезу о “радиотоксичности” чл.-корр. АН СССР А.М. Кузина [12, 13], которая вносила существенные дополнения в классические представления Н.В. Тимофеева-Ресовского о воздействии радиации на биологические объекты: теорию мишени и принцип попадания [14]. В последующие годы идеи А.М. Кузина широкого развития в нашей стране не получили, его труды практически неизвестны за рубежом.

Систематических и комплексных исследований в области “немишенных эффектов” в России по-прежнему мало, среди недавних необходимо отметить работы исследовательских групп И.И. Пелевиной [15–17] (ИХФ им. Семёнова РАН, Москва) и Б.П. Суринова [18] (МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ “НМИРЦ” Минздрава России, Обнинск). Следует сказать о различиях понятийного аппарата, используемого в западных и отечественных исследованиях. Определение “дистанционный эффект свидетеля” у нас включает эффекты, передающиеся не только между организмами, но и на уровне одного организма, возникающие в отдаленных по расстоянию клетках, органах и тканях, не являющихся прилежащими к облученным [13, 15].

В недавних исследованиях группы И.И. Пелевиной была создана цитогенетическая модель оценки рассматриваемого феномена, основанная на изучении aberrаций хромосом в клетках периферической крови человека. Продемонстрирована схема генотоксического действия лимфоцитов больных злокачественными новообразованиями на клетки крови здоровых индивидуумов в среде

(*in vitro*), имитирующей естественную, а тем самым показана возможность дистанционной передачи подобных изменений. Та же модель оказалась применимой к дистанционно-индуцируемым радиационным “немишенным эффектам”. В дальнейшем, на примере абскопальных эффектов (от слова *abscopal* – не в месте облучения) Пелевиной и соавт. были показаны *in vivo* дистанционно-индуцированные “немишенные эффекты”, возникающие в пределах одного организма на лимфоцитах прошедших радиотерапию больных [16, 17]. В связи с актуальностью темы лучевого “эффекта свидетеля”, И.И. Пелевиной был запланирован комплекс исследований на животных с целью изучения явлений передачи радиационных изменений от облученного организма к необлученному.

В данной работе представлены первые результаты исследований, выполненных на мелких млекопитающих, демонстрирующие изменения, возникающие у необлученных мышей, находящихся в контакте с облученными животными.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследование выполнено на 25 беспородных мыша-самках в возрасте от 3 до 4 мес. Все животные получены из питомника “Столбовая”, до опыта содержались группами по 10 особей в условиях вивария на сертифицированном корме, сбалансированном пищевом рационе при обычном водном режиме и естественном освещении (осенне-зимнего периода). Применялась подстилка из натурального сертифицированного гипоаллергенного материала (древесная стружка). До начала эксперимента мышей выдерживали не менее 2 нед. в стандартных металлических сетчатых клетках с целью адаптации к условиям лабораторного вивария. В опыте использовали здоровых животных, не подвергавшихся ранее другим экспериментальным воздействиям. Группы формировали методом сплошной выборки. При проведении экспериментальных процедур соблюдались соответствующие международные правила работы с животными [19].

Для облучения десять мышей были помечены с помощью красителя и рассажены по пять особей в специальные пластиковые боксы с индивидуальными секциями. Мыши были подвергнуты радиационному воздействию в дозе 3 Гр на установке:  $\gamma$ -терапевтический аппарат РОКУС-АМ (АО “Равенство”, Санкт-Петербург, Россия, зав. № 71); источник  $\gamma$ -излучения: радионуклид  $^{60}\text{Co}$ ; энергия  $\gamma$ -излучения: 1.25 МэВ; радиационный выход: мощность экспозиционной дозы (МЭД) на расстоянии 75 см от источника на 24.09.2018 г. в центре поля  $10 \times 10$  см равна 64.7 Р/мин. Облучение производилось с одного направления – сверху вниз, при этом тело каждой мыши было



**Рис. 1.** Схема рассадки мышей по клеткам № 1–2. Этап 1: пять мышей подвергаются облучению в дозе 3 Гр, в качестве “мышей-свидетелей” используются пять здоровых мышей из той же группы без облучения.

**Fig. 1.** Mice irradiation scheme for the cages № 1–2. In the first stage, five mice were exposed to  $\gamma$ -radiation at a dose of 3 Gy.



**Рис. 2.** Схема рассадки мышей по клеткам № 1–2. Этап 2: пять облученных мышей (3 Гр) содержатся совместно с необлученными мышами (мышами-“свидетелями”) на протяжении 3 мес.

**Fig. 2.** Mice irradiation scheme for the cages № 1–2. In the second stage, five irradiated (3 Gy) mice were kept together with non-irradiated companions for three months.

облучено полностью со стороны спины, с достижением эффекта равномерности.

Контейнер с мышами помещали на лечебном столе  $\gamma$ -аппарата таким образом, чтобы радиационное поле  $22 \times 22$  см охватывало с запасом весь контейнер. При этом расстояние от источника до объекта (поверхность спины мыши) устанавливали 75 см. Расчет дозы (3 Гр) проводили на глубину 1 см (98% от дозы в максимуме). При этом максимум дозы (100%) находился на глубине 0.5 см (3.06 Гр) и, если взять толщину объекта (мыши) 2.0 см, то на выходе из тела мыши доза составила 93.1%, т.е. 2.8 Гр.

После облучения мыши ( $n = 10$ ) были возвращены в виварий и рассажены в клетки для свободного контакта с необлученными особями ( $n = 10$ ) по следующей схеме: использовали две стандартные металлические клетки, в каждой из которых находилось по пять облученных мышей и по пять необлученных (мыши-“свидетели”). Облученные и необлученные мыши могли беспрепятственно контактировать друг с другом. В остальных условиях содержания соответствовали тем, которые были до радиационного воздействия. Таким образом, 20 мышей (беспородные мыши-самки), участвовавшие в эксперименте, содержались в двух самостоятельных клетках при равных условиях, что исключало случайности (рис. 1, 2). Эксперимент продолжался 3 мес. За мышами велось постоянное наблюдение.

Третью контрольную группу составили пять мышей-самок в возрасте от 3 до 4 мес., содержащихся отдельной группой из пяти особей в условиях вивария на том же стандартном сбалансированном пищевом рационе и водном режиме при естественном световом режиме в металлической клетке с сертифицированной подстилкой из древесных стружек. Сроки содержания контрольной

группы в условиях вивария соответствовали датировкам по основной группе.

На протяжении всего эксперимента вели контроль над изменением поведения животных. По истечении срока 3 мес. мышей забивали. У мышей трех исследованных групп оценивали вес тела, вес селезенки, состояние волосяного покрова, некоторые признаки изменений внутренних органов и поведенческих реакций. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного пакета STATISTICA-10. Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического  $U$ -критерия Манна–Уитни и точного критерия Фишера. Проводили также регрессионный анализ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Изменение поведенческих реакций*

После определенного периода адаптации, примерно через 2 нед. после начала эксперимента, были зафиксированы перемены в поведении грызунов, которые формировали беспородные мыши-самки. Отмечались изменения в поведении как облученных, так и необлученных мышей-“свидетелей” по сравнению с нормой (контрольные особи) и тем состоянием, которое было отмечено у животных до начала эксперимента. Особей с данными породными характеристиками и происхождением (питомник Столбовая) отличает достаточно стабильная нервная система, для них характерно уравновешенное и спокойное поведение. Подопытные животные, как облученные, так и мыши-“свидетели”, на протяжении всего периода наблюдения (около 3 мес.) отчетливо проявляли повышенную активность и нервозность по сравнению с контрольными мышами и тем, что должно быть в обычных условиях.

**Таблица 1.** Относительный вес селезенки животных ( $S/T \times 100$ )\* для трех исследованных групп беспородных мышей-самок**Table 1.** Relative values of spleen weights ( $S/T \times 100$ )\* for the three groups of animals studied: irradiated mice (3 Gy), bystander mice (0 Gy) and the control group (0 Gy)

Группы животных								
облученные 3 Гр ( $n = 10$ ) irradiated			свидетели 0 Гр ( $n = 10$ ) bystander			контроль 0 Гр ( $n = 5$ ) control		
номер животного	индивидуальные значения веса сел. S	среднее значение ( $M \pm SE$ )	номер животного	индивидуальные значения веса сел. S	среднее значение ( $M \pm SE$ )	номер животного	индивидуальные значения веса сел. S	среднее значение ( $M \pm SE$ )
O1	0.2667	0.243 $\pm$ 0.018	M1	0.2308	0.2594 $\pm$ 0.024	K1	0.2905	0.3204 $\pm$ 0.029
O2	0.2656		M2	0.3698		K2	0.2684	
O3	0.1686		M3	0.3515		K3	0.3324	
O4	0.1881		M4	0.2852		K4	0.2842	
O5	0.2985		M5	0.2111		K5	0.4265	
O6	0.2085		M6	0.1508				
O7	0.28		M7	0.1863				
<b>O8</b>	<b>2.57**</b>		<b>M8</b>	<b>1.347**</b>				
O9	0.1968		M9	0.2788				
O10	0.3125		M10	0.2701				

Примечание. Выявлено статистически значимое различие по относительному весу селезенки между группами “облученные мыши” и “контрольные мыши” ( $p = 0.046$  по тесту Манна–Уитни). Совершенно очевидно, что между облученными мышами и “свидетелями” нет существенных различий в индексе массы селезенки ( $p = 0.658$ ), при этом наблюдается явная тенденция к уменьшению рассматриваемого показателя у “мышей-свидетелей” по сравнению с контролем, хотя значимых различий не выявлено ( $p = 0.182$ ). Условное ранжирование полученных данных позволило провести регрессионный анализ зависимости рассматриваемого показателя от воздействия радиационного фактора (необлученные мыши – 0, мыши-“свидетели” – 1, облученные – 2). Рассматриваемая зависимость значимо описывалась линейным уравнением вида  $Y = 0.309 \pm 0.024 - 0.036 \pm 0.017X$  ( $r = -0.416$ ;  $p = 0.048$ ).

\*  $S/T$ ,  $S$  – вес селезенки (spleen weight),  $T$  – вес тела (body weight).

\*\* Патологические значения весов, удаленные из расчета.

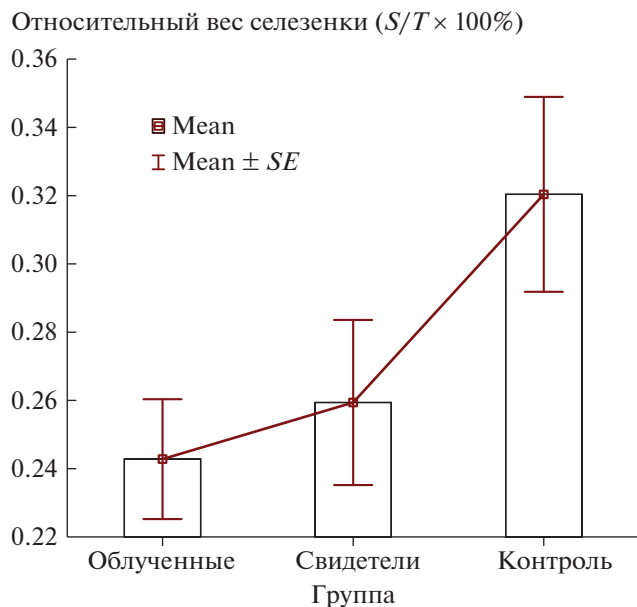
#### Изменения в относительном весе селезенки

Результаты оценки относительных весов селезенки в трех группах мышей представлены в табл. 1 и на рис. 3. Из расчета удалены два индивидуальных значения, существенно выходящих за пределы 95%-ного доверительного интервала. В группе облученных мышей рассматриваемый показатель был существенно ниже такового у животных контрольной группы ( $p = 0.046$  по тесту Манна–Уитни). Совершенно очевидно, что между облученными мышами и “свидетелями” нет существенных различий в индексе массы селезенки ( $p = 0.659$ ), при этом наблюдается явная тенденция к уменьшению рассматриваемого показателя у “мышей-свидетелей” по сравнению с контролем, хотя значимых различий не выявлено:  $p = 0.182$  (табл. 1). Наиболее наглядно полученные результаты представлены на рис. 3. Условное ранжирование полученных данных позволило провести регрессионный анализ зависимости рассматриваемого показателя от воздействия радиационного фактора

(необлученные мыши – 0, мыши-“свидетели” – 1, облученные – 2). Рассматриваемая зависимость значимо описывалась линейным уравнением вида  $Y = 0.309 \pm 0.024 - 0.036 \pm 0.017x$  ( $r = -0.416$ ;  $p = 0.048$ ).

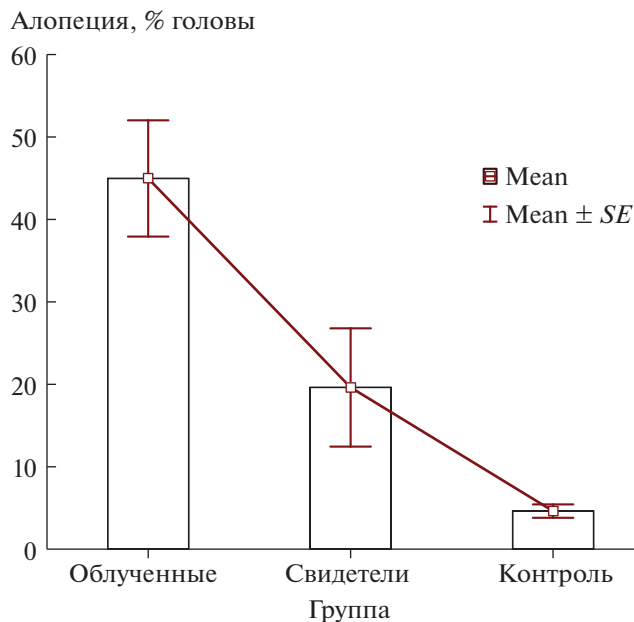
#### Изменение состояния волосяного покрова, алопеция

Через 1 мес. после начала эксперимента у подопытных мышей, как облученных, так и необлученных, появились отчетливые признаки алопеции. Этот процесс начинался с зоны, примыкающей к носу, и постепенно распространялся по направлению к верхней части головы. Алопеция проявлялась в полной опоясывающей потере шерсти на охваченных процессом участках головы и носила отчетливо патологический характер. У отдельных особей появлялись дополнительные очаги на верхней части головы и/или на теле, имевшие почти правильную геометрическую форму. На лишенных шерсти участках имела место эритема. Содержание мышей в двух не свя-



**Рис. 3.** Относительный вес селезенки у мышей исследованных групп ( $S/T \times 100\%$ ,  $S$  – вес селезенки,  $T$  – вес тела). Средние значения ( $M \pm SE$ ): облученные –  $0.243 \pm 0.018$ ; мыши-“свидетели” –  $0.2594 \pm 0.024$ ; контрольная группа –  $0.3204 \pm 0.029$ .

**Fig. 3.** Relative weights of spleen for the three groups of mice studied. ( $S/T \times 100\%$ ,  $S$  – spleen weight,  $T$  – body weight).



**Рис. 4.** Показатели алопеции для трех групп животных: облученные (3 Гр), “свидетели” (0 Гр), контрольная группа (0 Гр). Средние значения ( $M \pm SE$ ): облученные –  $44.970 \pm 7.051$ ; мыши-“свидетели” –  $19.620 \pm 7.176$ ; контрольная группа –  $4.620 \pm 0.808$ .

**Fig. 4.** Alopecia scale for the three groups of animals studied: irradiated (3 Gy), bystander (0 Gy) and the control group (0 Gy). Percentage of head affected by hair loss.

занных между собой клетках при рассадке по схеме пять облученных мышей и пять мышей-“свидетелей” в каждой клетке на протяжении нескольких месяцев исключает случайные причины возникновения указанного признака.

Результаты оценки волосяного покрова в трех группах мышей представлены в табл. 2 и на рис. 4. Уровень алопеции у облученных мышей существенно превышал таковой у контрольных животных ( $p = 0.0026$  по тесту Манна–Уитни). Между облученными животными и “свидетелями” также выявлены существенные различия по рассматриваемому показателю ( $p = 0.021$ ), при этом наблюдается явная тенденция к увеличению уровня алопеции у “мышей-свидетелей” по сравнению с контролем, хотя значимых различий не выявлено ( $p = 0.178$ ). Наиболее наглядно полученные результаты представлены на рис. 4. Условное ранжирование полученных данных позволило провести регрессионный анализ зависимости рассматриваемого показателя от воздействия радиационного фактора (необлученные мыши – 0, мыши-свидетели – 1, облученные – 2). Рассматриваемая зависимость значимо описывалась линейным уравнением вида  $Y = 1.663 \pm 7.590 + 20.914 \pm 5.367X$  ( $r = -0.631$ ;  $p = 0.001$ ).

#### Другие патологии

Помимо снижения относительной массы селезенки и патологической алопеции, выявленной у облученных мышей и мышей-“свидетелей” данной экспериментальной группы, в обеих категориях исследованных животных отмечались изменения кишечника. Представляется необходимым упомянуть об этих признаках, так как кишечник наряду с селезенкой относится к наиболее радиочувствительным органам [12, 13]. Выявлены статистически значимые различия между облученной и контрольной группами животных по показателю, характеризующему изменения кишечника ( $p = 3.3 \times 10^{-4}$  по точному критерию Фишера): налет на кишечнике сложной этиологии обнаружен у 10 из 10 облученных животных (100%) и отсутствует у мышей контрольной группы (рис. 5). По данному критерию отмечались и существенные различия между облученными животными и мышами-свидетелями ( $p = 0.003$ ). Хотя в группе мышей-“свидетелей” выявлены особи с рассматриваемыми изменениями (три из 10, или 30%), при таких объемах выборок отличия от контроля не обнаружено ( $p = 0.51$ ).

**Таблица 2.** Алопеция у мышей трех групп: облученные, “свидетели” и контроль. Процент головы, пострадавший от потери шерсти**Table 2.** Alopecia. The scale of hair loss for the three groups of mice studied: irradiated (3 Gy), bystander (0 Gy), control group (0 Gy). Percentage of head affected by alopecia

Группы животных								
облученные 3 Гр ( <i>n</i> = 10)			свидетели 0 Гр ( <i>n</i> = 10)			контроль 0 Гр ( <i>n</i> = 5)		
номер животного	% головы, пострадавший от алопеции	среднее значение ( <i>M</i> ± <i>SE</i> )	номер животного	% головы, пострадавший от алопеции	среднее значение ( <i>M</i> ± <i>SE</i> )	номер животного	% головы, пострадавший от алопеции	среднее значение ( <i>M</i> ± <i>SE</i> )
O1	33.3	44.970 ± 7.051	M1	33.3	19.620 ± 7.176	K1	3.3	4.620 ± 0.808
O2	33.3		M2	16.6		K2	6.6	
O3	83.3		M3	16.6		K3	6.6	
O4	33.3		M4	16.6		K4	3.3	
O5	50		M5	16.6		K5	3.3	
O6	16.6		M6	50				
O7	33.3		M7	66.6				
O8	83.3		M8	33.3				
O9	33.3		M9	16.6				
O10	50		M10	6.6				

Примечание. Выявлено статистически значимое различие по уровню алопеции между группами “облученные мыши” и “контрольные мыши” ( $p = 0.002$  по тесту Манна–Уитни). Между облученными мышами и “свидетелями” также определены существенные различия по рассматриваемому показателю ( $p = 0.021$ ), при этом наблюдается явная тенденция к увеличению рассматриваемого показателя у “мышей-свидетелей” по сравнению с контролем, хотя значимых различий не выявлено ( $p = 0.178$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, продемонстрирована реальность индукции “эффекта свидетеля” в необлученном организме в результате его контакта с организмом, подвергшимся радиационному воздействию. Полученные результаты приводят к формулировке нескольких вопросов, ответ на которые приблизит к пониманию механизмов радиационно-индуцированных “байстендерных” эффектов, проявившихся в опыте. “Возможны ли условия, при которых признаки радиационно-индуцированных изменений организма возникнут без облучения?” “Каковы “транспортные” механизмы передачи радиационно-индуцированных изменений от облученных организмов к необлученным?” Для объяснения радиационно-индуцированного “эффекта свидетеля” сегодня предлагается три механизма: 1) непосредственный контакт и передача повреждающих факторов; 2) выделение токсических соединений, которые могут вызывать отдаленные по расстоянию эффекты облученных клеток; 3) действие биофтонов [1].

В настоящее время проблематике “немишен-ных эффектов” посвящен огромный массив публикаций; сам термин возник поздно, на рубеже

XX–XXI веков в результате деятельности общеевропейского проекта “Радинстаб”. По свидетельству К. Мазерсилл и др., к этому моменту следовали периодические повторные открытия радиационного “эффекта свидетеля”, но “тема в определенные периоды появлялась лишь для того, чтобы исчезнуть вновь” [6]. Практически неизвестным за рубежом является тот факт, что важные механизмы действия современных “немишен-ных эффектов” с точки зрения клеточных и биохимических процессов были показаны в 1960-е годы в экспериментах А.М. Кузина и нашли отражение в его трудах, посвященных действию радиотоксинов (РТ).

Характеризуя этапы развития “типичной формы” лучевой болезни человека, возникающей при дозах тотального облучения 1–10 Гр, А.М. Кузин отмечал, что уже в момент радиационного воздействия во всех тканях экспонированного организма возникают свободные радикалы воды и органических соединений. В присутствии кислорода они дают такие токсические вещества, как перекись водорода, гидроперекиси и пероксиды ненасыщенных жирных кислот, семихиноидные и хиноидные формы полифенолов, токсические

адукаты перекиси водорода с гистидином и другие первично образующиеся РТ ([13], с. 122–124).

Действие радиотоксинов относится к вторичным изменениям, возникающим в результате облучения клеток. Многочисленные эксперименты показали способность первичных радиотоксинов задерживать деление клеток, вызывать их гибель, а также, что важно для обсуждения результатов нашего эксперимента, – имитировать лучевое поражение у животных ([12], с. 88). Радиотоксины, образующиеся в облученных растениях, легко экстрагируются, при введении подобных выделенных экстрактов необлученным животным происходит падение веса тела с последующим угнетением роста, резкое уменьшение количества лейкоцитов в первые часы после инъекции, а также изменение веса некоторых внутренних органов ([12], с. 88).

Далее рассмотрим дистанционные эффекты радиации с точки зрения теории радиотоксинов. Как отмечали А.М. Кузин и Л.М. Крюкова, облучение листа растения *Vicia faba* при полной экранировке всего остального растения приводит к угнетению митотического деления в точках роста, причем удаление облученного листа в ближайшие 4 ч после облучения приводило к снятию отмеченного эффекта ([12], с. 19). Установлено, что наряду с угнетением митотического деления происходит нарушение хромосомного аппарата ([12], с. 19). Таким образом, на вопрос о причастности первичных радиотоксинов к абскопальным дистанционным эффектам радиации, упомянутым во вступлении, дается положительный ответ.

В 1997–1998 гг. в работах Б.П. Суринова было показано, что совместное пребывание в клетке облученных и необлученных мышей и крыс приводит к таким проявлениям “эффекта свидетеля” у необлученных животных, как снижение уровня лейкоцитов и ядерных нейтрофилов периферической крови, а также снижение иммунной реактивности. Аналогичные эффекты вызывала подстилка, перенесенная под клетки с необлученными животными из-под клеток с облученными грызунами. Была высказана гипотеза о том, что сигнал лучевого “эффекта свидетеля” (“байстендерный” сигнал) между животными передается за счет летучих соединений, зависящих от пола, – феромонов [20–25].

Авторы трактуют результаты проведенного эксперимента с позиций теории радиотоксинов. Липоперекиси, образующиеся в результате облучения, являются высокотоксичными летучими соединениями. Продукты липоперекисного окисления, появление летучих метаболитов могут стать причиной возникновения молекулярного “байстендерного” сигнала [26, 27].

Необходимо также сказать о серии новейших экспериментов, проводимых группой канадских

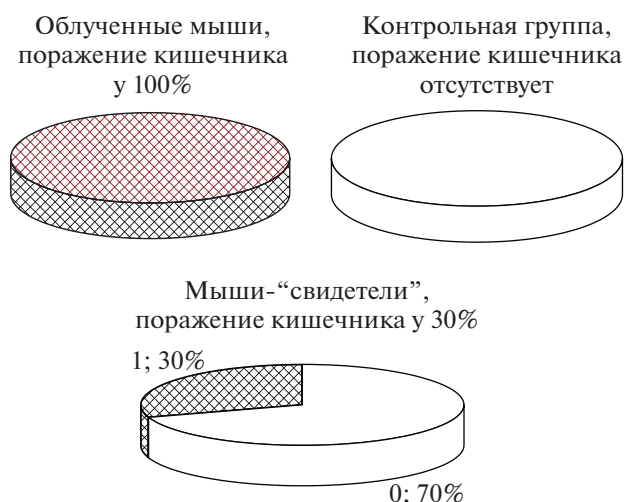


Рис. 5. Наличие (отсутствие) признаков поражения кишечника (налет сложной этиологии) в изучаемых группах мышей: облученные (3 Гр), свидетели (0 Гр) и контроль (0 Гр).

Fig. 5. The presence of signs of bowel damage (plaque of complex etiology) in the groups of mice studied: irradiated (3 Gy), bystander (0 Gy) and control (0 Gy).

исследователей университета г. Макмастера во главе с К. Мазерсилл [28–30]. В качестве объяснения механизмов “эффекта свидетеля” тестируется гипотеза о роли биофотонов ультрафиолетового спектра в передаче “байстендерного” сигнала между организмами, и некоторые положения данной теории уже находят свое подтверждение. Предполагается, что использование указанных принципов квантовой биофизики выведет обсуждение механизма феномена на принципиально новый уровень [28–30].

Как было показано в предшествующих экспериментах Е.А. Нейфаха [31–33], процесс перекисного окисления в организме приводит к хемилюминесценции, появлению ультраслабого потока биофотонов сине-зеленого спектра, что вызвано взаимодействием радикалов. Не исключается роль данных фотонов, наряду с действием метаболитов липоперекисей, в процессе формирования и передачи “байстендерного” сигнала между клетками и организмами при облучении.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши первые результаты в рамках запланированных исследований, являющихся важной задачей современной радиобиологии, продемонстрировали реальность индукции “эффекта свидетеля” в необлученном организме в результате его контакта с организмом, подвергшимся радиационному воздействию. Показано, что совместное содержание облученных (3 Гр) и необлученных мышей в течение 3 мес. вызвало у необлученных

животных изменения селезенки, кишечника, кожи, подобные радиационно-индуцированным. Патологии, выявленные у облученных мышей, фиксировались у необлученных животных-“свидетелей” в менее выраженной форме.

Феномен “немишенных эффектов” и его механизмы по-прежнему недостаточно изучены. Ежегодно публикуются новые данные о проявлениях “немишенных эффектов”, появляются также принципиально новые подходы к изучению этого явления в связи с прогрессом лабораторной техники и методик. Сделанные в ходе исследования выводы являются предварительными, в дальнейшем предполагается провести тестирование различных гипотез, относящихся к механизмам передачи “байстендерного” сигнала на уровне организма. Актуальность задачи исследования лучевого дистанционного эффекта свидетеля связана с широкой применимостью результатов. “Дистанционно индуцированные эффекты свидетеля”, являющиеся темой настоящего исследования, создают угрозу передачи радиационных повреждений в масштабах популяции, включая человеческую, что требует особого изучения и внимания. Результаты оценки “немишенных эффектов” весьма востребованы в различных областях: в теоретической радиобиологии как одно из основополагающих знаний о воздействии радиации на клетки и организмы, в практической медицине для радиотерапии, а также в радиоэкологии при оценке долгосрочных последствий техногенных катастроф и изменений природной среды. В XXI веке в связи с развитием атомной энергетики государство и общество столкнулись с такими угрозами, как радиационные риски для населения и окружающей среды. Знание о проявлениях “немишенных эффектов” – важнейших звеньях в цепи последствий радиационного воздействия на биологические объекты – поможет выработать подходы к защите населения от негативных факторов, связанных с повышенным радиационным фоном.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ 16-04-00963/18. Часть работы выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (тема 0082-2014-0001, № АААА-А17-117040610310-6), за счет субсидии, выделенной ИХФ РАН на выполнение государственного задания, тема 0082-2014-0001 “Изучение принципов структурно-функциональной организации биомолекулярных систем, разработка методов дизайна их физико-химических аналогов и создание на этой основе биологически активных препаратов нового поколения”, № АААА-А17-117040610310-6.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mothersill C., Rusin A., Seymour C.* Low doses and non-targeted effects in environmental radiation protection; where are we now and where should we go? // *Environ. Res.* 2017. V. 159. P. 484–490.
2. *Morgan W.F.* Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: I. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vitro // *Radiat. Res.* 2003. V. 159. № 5. P. 567–580.
3. *Луммл Д.Б.* Немишенные эффекты ионизирующих излучений: выводы применительно к низкодозовым воздействиям // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2007. Т. 47. № 3. С. 262–272. [*Littl D.B.* Nemishennye efekty ioniziruyushih izlucheniyy: vyvody primenitel'no k nizkodozovym vozdeystviyam // *Radiats. Biol. Radioecol.* 2007. V. 47. № 3. P. 262–272. (In Russian)]
4. *Mothersill C., Smith R.W., Saroya R. et al.* Irradiation of rainbow trout at early life stages results in legacy effects in adults // *Int. J. Radiat. Biol.* 2010. V. 86. № 10. P. 817–828.
5. *Mothersill C., Smith R., Wang J. et al.* Biological Entanglement—Like Effect after Communication of Fish Prior to X-Ray Exposure // *Dose-Response: Int. J. Janu- ary.* 2018. P. 1–17.
6. *Mothersill C., Rusin A., Fernandez-Palomo C., Seymour C.* History of bystander effects research 1905 – present; what is in a name // *Int. J. Radiat. Biol.* 2018. V. 94. № 8. P. 696–707.
7. *Smith R.W., Moccia R.D.* The Radiation Induced Bystander Effect: Is there Relevance for Aquaculture? // *Ann. Aquatic. Res.* 2016. V. 3. № 3. P. 1026.
8. *Reis P., Lourenço J., Carvalho F.P. et al.* RIBE at an inter-organismic level: A study on genotoxic effects in *Daphnia magna* exposed to waterborne uranium and a uranium mine effluent // *Aquat. Toxicol.* 2018. V. 198. P. 206–214.
9. *Ariyoshi K., Miura T., Kasai K. et al.* Radiation-induced bystander effect in large Japanese field mouse (*Apodemus speciosus*) embryonic cells // *Radiat. Environ. Biophys.* 2018. V. 57. Issue 3. P. 223–231.
10. *Lee M.H., Lee K.M., Kim E.H.* Neighbor effect: penumbra-dose exposed neighbor cells contribute to the enhanced survival of high-dose targeted cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 2017. V. 93. № 11. P. 1227–1238.
11. *Galván I., Bonisoli-Alquati A., Jenkinson S. et al.* Chronic exposure to low-dose radiation at Chernobyl favours adaptation to oxidative stress in birds // *Br. Ecol. Soc. Function. Ecol.* 2014. V. 28. P. 1387–1403.
12. Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии / Ред. А.М. Кузин. М.: Атомиздат, 1966 г. [Radiotoxins, their nature and role in the biological effects of high energy radiation / Ed. A.M. Kuzin. M.: Atomizdat, 1966. (In Russian)]
13. *Кузин А.М., Копылов В.А.* Радиотоксины. М.: Наука, 1983. [*Kuzin A., Kopylov V.* Radiotoxins. M.: Nauka, 1983. (In Russian)]
14. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальнов М.И.* Введение в молекулярную радиобиологию. М.: Медицина, 1981. [*Timofeev-Ressovsky N., Savich A.,*



- Shalnov M.* Introduction to molecular radiobiology. M.: Medicina, 1981. (In Russian)
15. *Пелевина И.И., Петушкова В.В., Бирюков В.А. и др.* Роль “немишеннных эффектов” в реакции клеток человека на радиационное воздействие // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 3. С. 261–273. [*Pelevina I.I., Petushkova V.V., Biryukov V.A. et al.* The “Radiation-Induced Non-Targeted Effects” and their Role in Human Cell Response to Low Radiation Forcing // Radiation biology. Radioecology. 2019. V. 59. № 3. P. 261–273. (In Russian)]
  16. *Пелевина И.И., Серебряный А.М., Петушкова В.В. и др.* Аберрации хромосом лимфоцитов при “немишеннных эффектах” как маркер радиационно-индуцированных реакций организма // Сб. тр. конф. “Современные вопросы радиационной генетики”, Дубна: ОИЯИ, 2019. [*Pelevina I.I., Serebryanyi A.M., Petushkova V.V. et al.* Aberrations of Human Blood Lymphocytes as a Marker of Radiation-Induced Reactions // “Contemporary issues of radiation genetics”, Selected works of the Conference, Dubna, 2019. (In Russian)]
  17. *Пелевина И.И., Серебряный А.М., Петушкова В.В. и др.* Аберрации хромосом лимфоцитов при “немишеннных эффектах” как маркер радиационно-индуцированных реакций организма // Сб. тр. конф. ИХФ РАН / Ред. О.Т. Касаикина, И.С. Ионова. М.: РУДН, 2019. [*Pelevina I.I., Serebryanyi A.M., Petushkova V.V. et al.* Aberrations of Human Blood Lymphocytes as a Marker of Radiation-Induced Reactions // N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Selected works of the annual Conference. M.: RUDN University, 2019. (In Russian)]
  18. *Суринов Б.П., Духова Н.Н., Исаева В.Г.* Свойства летучих соединений, выделяемых облученными ионизирующей радиацией животных и дистанционный “эффект свидетеля” (bystander effect) // Радиация и риск (Бюлл. Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2015. Т. 24. № 3. С. 105–114. [*Surinov B.P., Dukhova N.N., Isaeva V.G.* Properties of volatile compounds emitted by irradiated animals and radiation-induced inter-organism bystander effects // Radiation and Risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Registry). 2015. V. 24. № 3. P. 105–114. (In Russian)]
  19. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010.
  20. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н.* Коммуникативное умножение вторичных нарушений показателей крови и иммунитета в группах интактных мышей, опосредованное летучими выделениями облученных особей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44 № 4 С. 387–391. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N.* Communicative multiplication of secondary disorders in blood formula and immunity in groups of intact mice caused by volatile compounds excreted by irradiated animals // Radiats. Biol. Radioecol. 2004. V.44. № 4. P. 387–391. (In Russian)]
  21. *Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N.* Postirradiation volatile secretions of mice: syngeneic and allogeneic immune and behavioral effects // Bull. Exp. Biol. Med. 2004. V. 138. P. 384–386.
  22. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Токарев О.И.* Аллопатическая активность летучих соединений облученных животных // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. С. 645–649. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Tokarev O.I.* Allelopathic activity of volatile secretions in irradiated animals // Radiats. Biol. Radioecol. 2001. V. 41. P. 645–649. (In Russian)]
  23. *Суринов Б.П., Карпова Н.А., Исаева В.Г.* Пострадиационная коммуникативная индукция нарушений крови и иммунитета // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1998. № 3. С. 7. [*Surinov B.P., Karpova N.A., Isaeva V.G.* Postradiacionnaya kommunikativnaya indukcia narusheniy krovi i immuniteta // Patol. Fiziol. Eksperim. Ter. 1998. № 3. P. 7. (In Russian)]
  24. *Суринов Б.П., Карпова Н.А., Исаева В.Г., Кулиш Ю.С.* Пост стрессорные состояния и коммуникативные нарушения иммунитета и крови // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2000. № 4. С. 9–11. [*Surinov B.P., Karpova N.A., Isaeva V.G., Kulish I.S.* 2000. Post-stress state and communicative alterations of immunity and blood // Patol. Fiziol. Eksperim. Ter. 2000. № 4. P. 9–11. (In Russian)]
  25. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Карпова Н.А.* Контактная передача пострадиационного иммунодефицитного состояния // Иммунология. 1997. № 6. С. 18. [*Surinov V.P., Isaeva V.G., Karpova N.A.* Natural excretions of mice in the postradiation period and contact induction of immunodeficiency // Immunologiya. 1997. № 6. P. 18. (In Russian)]
  26. *Нейфакх Е.А.* Эмбриологический метод исследования перекисного окисления липидов // Симп. Свободно-радикальное перекисное окисление липидов в норме и при патологиях. М., 1976. С. 120. [*Neyfakh E.A.* The embryological method of investigation for lipoperoxidation // Symp. Free-radical lipid peroxidation in norm and pathology. M., 1976. P. 120. (In Russian)]
  27. *Нейфакх Е.А.* Высокочувствительный метод исследования токсичности перекисного окисления // Вопр. мед. химии. 1977. Т. 23. С. 131. [*Neyfakh E.A.* The high-sensitive method for lipoperoxide toxicity investigation // Voprosy Med. Chem. 1977. V. 23. P. 131. (In Russian)]
  28. *Mothersill C., Le M., Rusin A., Seymour C.* Biophotons in radiobiology: inhibitors, communicators and reactors // Radiat. Prot. Dosim. 2019. V. 183. P. 136–141.
  29. *Le M., McNeill F.E., Seymour C.B. et al.* Modulation of oxidative phosphorylation (OXPHOS) by radiation-induced biophotons // Environ. Res. 2018. V. 163 P. 80–87.
  30. *Le M., Fernandez-Palomo C., McNeill F.E. et al.* Exosomes are released by bystander cells exposed to radiation-induced biophoton signals: Reconciling the mechanisms mediating the bystander effect // PLoSOne. 2017. V. 12. № 3. e 0173685.
  31. *Нейфакх Е.А., Эммануэль Н.М.* Возможности хемилюминесцентного метода исследования окисления незаменимых жирных кислот // Симп. Свободно-радикальные процессы в биосистемах. М.: Наука, 1964. П. 36. [*Neyfakh E.A., Emmanuel N.M.* Chemiluminescence method’s possibilities for investigation of essential fatty acid oxidation. Symp. Free

- radical processes in biosystems. М.: Nauka, 1964. P. 36. (In Russian)]
32. *Нейфах Е.А.* Исследование механизмов сверхслабой хемилюминесценции // Симп. Сверхслабая люминесценция в биологии. М.: МГУ, 1969. С. 44. [*Neyfakh E.A.* Investigation of mechanisms for ultra-weak chemiluminescence // Symp. Ultra-weak luminescence in biology. М.: MSU, 1969. P. 44. (In Russian)]
33. *Нейфах Е.А.* Свободно-радикальный механизм сверхслабой хемилюминесценции, сопряженной с перекисным окислением ненасыщенных жирных кислот // Биофизика. 1971. Т. 16. № 3. С. 560. [*Neyfakh E.A.* Free-radical mechanism of ultra-weak chemiluminescence coupled with UFA peroxidation // *Biofizika*. 1971. V. 16. № 3. P. 560. (In Russian)]

## Radiation-induced Inter-organism Bystander Effects. Some Aspects of the Transmission

V. V. Petushkova<sup>a, #</sup>, I. I. Pelevina<sup>a</sup>, I. N. Kogarko<sup>a</sup>, E. A. Neyfakh<sup>a</sup>, B. S. Kogarko<sup>a</sup>, and O. V. Ktitorova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> N.N. Semyonov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>#</sup>E-mail: pele@chph.ras.ru

The study makes a contribution to our Group integrated project for the research of radiation-induced non-targeted effects. The radiation-induced inter-organism bystander effect is one of the least studied in terms of manifestations and mechanisms phenomena. The international practice of the laboratory works for inter-organism bystander effects was started in fish and other aqua cultures. In our experiment mice where irradiated (exposed to a single 3 Gy  $\gamma$ -ray dose), and then contacted with non-irradiated companions for three months. Our work using female outbred mice shows the changes similar to the radiation –induced pathology in organisms of non-irradiated bystander mice. The changes in behavioral reactions, significant trends towards a reduction of spleen weight, severe alopecia and other signs of abnormalities similar to radiation-induced were registered. Discussions of possible mechanisms of the phenomena refer both to the theory of radio toxicology by A. Kuzin, and to testing of various hypotheses in new research practice of C. Mothersill. The aim of the work is to draw attention to the need of further studies of radiation-induced inter-organism level bystander effects.

**Keywords:** radiation-induced non-targeted effects, outbred female mice, radiation-induced inter-organism bystander effects, radio toxicology, lipid peroxides, biophotons