

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КОСТНОМ МОЗГЕ ЖИВОТНЫХ, ОБИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО ЕСТЕСТВЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА

© 2023 г. Л. А. Башлыкова<sup>1,\*</sup>, О. В. Раскоша<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии ФИЦ Коми Научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия

\*e-mail: labashlykova@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 27.01.2022 г.

После доработки 27.09.2022 г.

Принята к публикации 09.11.2022 г.

Изучены цитогенетические эффекты в клетках костного мозга полевков-экономок (*Alexandromys (Microtus) oeconomus* Pall.), обитавших на территориях, загрязненных ураном и радием, вследствие функционирования радиевого промысла (радиевый участок) и складирования его отходов (урано-радиевый участок) в пос. Водный (Республика Коми). Уровень и характер мутационных эффектов у полевков с радиоактивно загрязненных участков свидетельствуют о сохранении повышенной частоты aberrаций хромосом и появлении особей с измененным кариотипом, что указывает на генетическую нестабильность. При определении характера динамики мутационного процесса в изучаемых популяциях отмечена высокая частота клеток с микроядрами у полевков радиевого участка, за исключением фазы низкой численности. В экспериментах с применением провокационных факторов химической (уретан) и радиационной (острое  $\gamma$ -облучение) природы показано повышение устойчивости клеток костного мозга животных, отловленных на радиоактивно загрязненной территории.

**Ключевые слова:** повышенный фон естественной радиоактивности, полевка-экономка, костный мозг, нестабильность генома, устойчивость к дополнительным факторам

**DOI:** 10.31857/S0869803123010034, **EDN:** UBSEZO

В условиях повсеместного антропогенного воздействия особое значение приобретают исследования природных популяций животных, обитающих на радиоактивно загрязненных территориях. Выявление эффектов и понимание механизмов, позволяющих живым организмам адаптироваться к длительному воздействию ионизирующего излучения, необходимы для будущих попыток восстановления экосистем после различных радиационных инцидентов. После аварий на Чернобыльской АЭС и “Фукусима-дайти” увеличилось число публикаций, свидетельствующих о том, что экосистемы, начиная с момента непосредственно после аварий до наших дней, динамично меняются [1–3]. Наши исследования проводятся на территории, загрязненной тяжелыми естественными радионуклидами более длительное время – с 30-х годов 20-го века (Северный радиологический стационар в Республике Коми). Это позволило проследить динамику мутационного процесса в популяции референтного вида полевков в течение более 50 лет, используя цитогенетические методы исследования клеток костного мозга. Эти методы, являющиеся осно-

вополагающими в радиологическом мониторинге, способствуют получению информации о наиболее значимых последствиях воздействия повышенного радиационного фона на биологические объекты и направленности протекающих в этих условиях микроразвитий преобразований. Хроническое действие ионизирующего излучения на популяции живых организмов может приводить к изменению эффективности ответа на повреждения ДНК, возникающие при воздействии внешних стрессовых факторов разной природы [4].

Цель исследования состояла в оценке уровня цитогенетических нарушений и ответной реакции на провокационное действие факторов физической и химической природы клеток костного мозга у животных из природных популяций, подверженных хроническому воздействию ионизирующего излучения в малых дозах.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследований были полевки-экономки (*Alexandromys (Microtus) oeconomus* Pall.),

длительное время обитающие в условиях повышенного фона естественной радиоактивности. Отлов животных в разные годы исследований проводили на одних и тех же участках, различающихся между собой генезисом источников поступления в окружающую среду повышенных концентраций естественных радиоактивных элементов. Радиевый участок возник в результате добычи и переработки в течение 25 лет солей радия из пластовых вод, что обусловило повышенный уровень естественной радиоактивности. Мощность  $\gamma$ -излучения на этом участке была выше фоновых значений — 0.5–12.5 мкГр/ч. Причиной увеличения радиоактивности почв были бессульфатные хлоридно-натрий-кальциевые рассолы с повышенными концентрациями радия и фоновым содержанием  $^{238}\text{U}$  [5]. Урано-радиевый участок образовался на месте отвалов урано-радиевого производства, которое существовало с 1946 по 1956 г. На данном участке содержание радия в почве превышало контрольные значения в 461–682 раза, а урана в 4–28 раз, мощность  $\gamma$ -излучения колебалась в пределах от 2 до 60 мкГр/ч [6]. В конце 1960 – начале 1970-х годов средние значения мощности поглощенной дозы для организма взрослого животного изменялись в диапазоне 28–83 мГр/год (3.19–9.47 мкГр/ч) [7], что в 7 и более раз превосходит значения мощностей доз облучения (0.01–0.44 мкГр/ч) наземных животных, обитающих в условиях нормального радиационного фона [8]. Основной вклад в облучение вносят рассеянные в окружающей среде радионуклиды уранового и ториевого рядов, являющиеся одновременно  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучателями [6].

После отлова полевок-экономок доставляли в виварий Института биологии Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckr-uf.ru/usu/471933/>), где животных содержали в поликарбонатных клетках (размер 35 × 22 × 90 см, Tecniplast, Италия) при естественном освещении, температуре  $\approx 20$ – $22^\circ\text{C}$  и влажности воздуха  $50 \pm 5\%$  со свободным доступом к воде и пище. При работе руководствовались этическими правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г., подтверждена в 15.06.2006 г.) и требованиями международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным при эстрипации органов [9].

При анализе метафазных клеток костного мозга оценивали частоту хромосомных aberrаций (дигцентрические, кольцевые хромосомы, парные фрагменты), хроматидных aberrаций, анеуплоидных и полиплоидных клеток. Для накопления метафаз проводили внутрибрюшинную инъекцию колхицина в дозе 4 мг/г веса тела полевок или инкубировали в течение 1 ч суспензию клеток костного мозга в 10 мл изотонического рас-

твора при  $37^\circ\text{C}$  с добавлением 0.2 мл 0.004%-ного раствора колхицина. Клетки центрифугировали, подвергали гипотонии раствором KCl (0.56%) и фиксировали смесью ледяной уксусной кислоты и метанола (1: 3). Суспензию клеток наносили на охлажденные стекла, фиксатор выжигали. Полученные препараты окрашивали 4%-ным раствором Романовского–Гимза и анализировали по 100 метафаз на животное [10]. Микроядерный тест является экспресс-методом для оценки генотоксического эффекта факторов химической, физической и биологической природы в условиях как лабораторных экспериментов, так и в природной среде [11–13]. Суспензию клеток костного мозга после гипотонии фиксировали смесью ледяной уксусной кислоты и метанола с последующей окраской генетического материала акридиновым оранжевым (“Sigma”; 2 мкг/мл в фосфатно-солевом буфере). Число клеток с микроядрами (1000 клеток на животное) подсчитывали с помощью флуоресцентного микроскопа Axioscop A1 (Carl Zeiss, Jena, Германия), также анализировали делящиеся клетки (митотический индекс) и долю клеток, элиминирующих по пути апоптоза [14]. Двунитевые разрывы (ДР) ДНК определяли методом ДНК-комет в нейтральной версии pH [15, 16], который отражает число ДР ДНК различной природы, как ферментативных, так и индуцированных повреждающими агентами, в том числе и свободными радикалами [17]. Изображения ДНК-комет получали с использованием камеры CCD AxioCam ICm 1 и программного пакета “AxioVision SE64, Release 4.8.2” (Carl Zeiss, Германия) с разрешением  $1338 \times 1038$  пикселей, длина волны возбуждающего света — 450–490 нм, запирающий фильтр 510 нм. На каждом слайде было проанализировано по 100 ДНК-комет с использованием программы “CometScore 1.5” (TriTek Corp., США). Для оценки повреждения ДНК клеток костного мозга использовали интегральный показатель “Olive tail moment” (OTM) [16].

Для выявления резервных возможностей органа в качестве провокационных нагрузок использовали острое  $\gamma$ -облучение и уретан (этилкарбамат; Sigma-Aldrich, США), который подавляет синтез пиримидинов [18] и относится к канцерогенам-промоторам [19, 20]. Полевкам-экономкам, отловленным на контрольном и радиевом участках, внутрибрюшинно вводили 10%-ный раствор уретана из расчета 1 мг/г массы тела, а интактным животным этих же групп — эквивалентное количество физиологического раствора. Через 48 ч после воздействий животных выводили из эксперимента путем декапитации. Для оценки провокационного действия радиационного фактора полевок-экономок, привезенных с контрольного и радиевого участков, облучали в дозе 4 Гр на  $\gamma$ -установке “Исследователь” (Россия) с источником  $^{137}\text{Cs}$  при мощности дозы 0.75 Гр/мин.

**Таблица 1.** Цитогенетический анализ клеток костного мозга полевок-экономок, обитающих в условиях повышенного радиационного фона**Table 1.** Cytogenetic analysis of bone marrow cells of root voles living in conditions of increased background radiation

Показатели	Участки обитания животных		
	контрольный	радиевый	урано-радиевый
Число особей	12	7	14
Исследовано всего метафаз	1750	560	1296
Структурные aberrации, %	0.7	2.5**	2.0**
В том числе:			
хроматидные aberrации, %	0.2	0.7*	0.63**
хромосомные aberrации, %	0.5	1.8*	1.5*
из них: обмены, %	0	0.18	0.42
Геномные aberrации:			
анеуплоиды ( $2n + 1$ ), %	0.06	0.53*	0.42*
полиплоиды ( $4n$ ), %	1.9	2.5	1.4

\* Различия достоверны по сравнению с контрольным участком \* –  $p < 0.05$  и \*\* –  $p < 0.001$ .

Радиационно-индуцированные эффекты у полевок анализировали через 4 ч одновременно с необлученными особями, отловленными на этих же участках.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6 (StatSoft, Inc., США). При сравнении различий между опытными и контрольными группами использовали  $t$ -критерий Стьюдента и  $U$ -критерия Манна–Уитни.

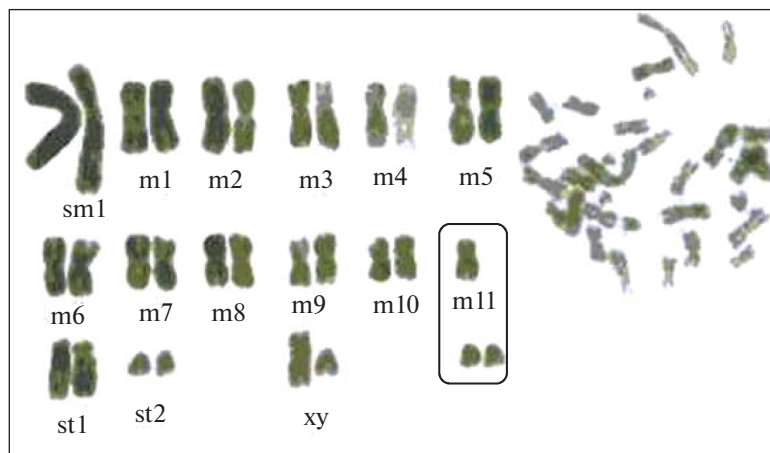
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты наших первых исследований, проведенных в 1983 г., показали высокую радиочувствительность клеток костного мозга полевок-экономок, обитающих на радиоактивных участках; доля клеток с хромосомными aberrациями на радиевом участке составила 2.5%, на урано-радиевом – 2.0%, а на контрольном участке – 0.7% (табл. 1). Доля структурных перестроек хромосом у полевок, обитавших на радиоактивных участках, статистически значимо отличалась от контроля ( $p < 0.01$ ). Более 70% регистрируемых aberrаций относились к хромосомным, среди которых обнаружены отсутствующие в контроле дицентрики и кольца, являющиеся надежными маркерами радиационного воздействия. Уровень хроматидных aberrаций у животных, обитающих в условиях повышенного радиационного фона, также значительно превысил контрольные значения ( $p < 0.05$ ). В клетках костного мозга особей радиевого участка выявлены транслокации между 13-й и 14-й хромосомами  $t(13; 14)$ . Для обменов, которые образовались в результате воссоединения фрагментов хромосом, несущих центромерный район, существует вероятность длительного сохранения этих нарушений в популяции стволовых клеток, а сбалансированные реципрокные транслокации

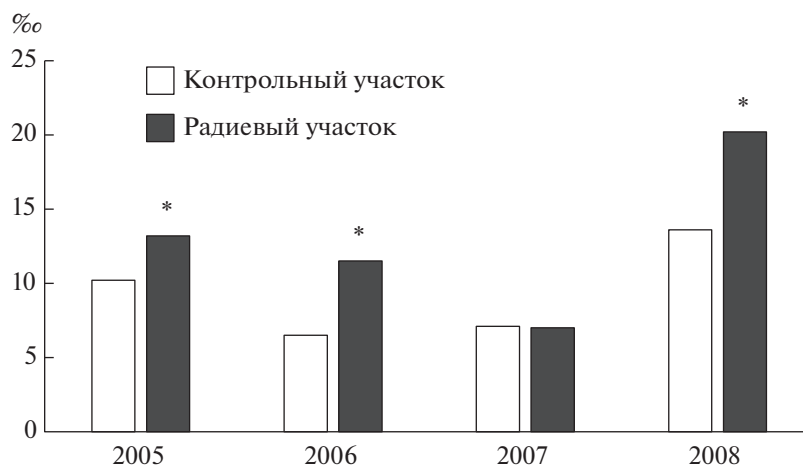
( $t(13; 14)$ ) могут оставаться при последующих мейотических делениях клеток и передаваться по наследству. Сходные изменения наблюдали в популяции полевок урано-радиевого участка, но в данных условиях облучения в клетках костного мозга животных обменные aberrации хромосомного типа были более многочисленны – 0.42%.

Помимо высокого уровня структурных перестроек хромосом в клетках костного мозга, у полевок с радиоактивно загрязненных участков обнаружено значимое превышение по сравнению с контролем частоты гипердиплоидных клеток ( $2n = 31$  вместо  $2n = 30$ ) [21]. Причем у полевок с радиоактивных участков изменение числа хромосом в кариотипе было связано с трисомией 1-, 2, 5- и 10-й пар хромосом, а в контроле – с трисомией 13-й пары хромосом. В клетках костного мозга у животных с урано-радиевого участка в дополнение к описанному механизму возникновения анеуплоидии выявлены отсутствие одной из хромосом пары  $m11$  и наличие двух новых акроцентрических хромосом (рис. 1). Такой тип транслокаций относят к Робертсоновским перестройкам [22]. При этой мутации не изменяется количество плеч хромосом ( $N_{Fa} = 54$ ), хромосомная перестройка обусловлена разделением метацентрической ( $m11$ ) хромосомы на два акроцентрика и количество хромосом увеличивается ( $2n = 31$ ).

Поскольку повышенный радиационный фон может выступать в роли фактора, увеличивающего изменчивость генотипа популяций и, следовательно, скорость эволюционных преобразований [23], на следующем этапе наших исследований предстояло выяснить характер динамики мутационного процесса в изучаемых популяциях и оценить резервные возможности полевок-экономок, длительное время обитающих в условиях хронического воздействия повышенного фона есте-



**Рис. 1.** Кариотип полевки-экономки урано-радиевого участка с робертсоновской перестройкой хромосомы m11 ( $2n = 31$ ).  
**Fig. 1.** Karyotype of root voles of uranium-radium region with Robertsonian rearrangement of chromosome m11 ( $2n = 31$ ).



**Рис. 2.** Доля клеток костного мозга с микроядрами у полевок-экономок контрольного и радиевого участков.  
 \* Различия достоверны ( $p < 0.05$ ) по сравнению с животными контрольного участка.  
**Fig. 2.** Proportion of bone marrow cells with micronuclei in root voles of the control and radium plots.  
 \* Differences are significant ( $p < 0.05$ ) compared with the animals of the control plot.

ственной радиоактивности. Для определения характера динамики мутационного процесса применяли микроядерный тест. Исследование животных в течение 4 лет (8 поколений) показало, что изменение частоты клеток с микроядрами в костном мозге животных в популяции с контрольного участка сходно с результатами, полученными у животных, обитающих в условиях повышенного радиационного фона (рис. 2). В обоих случаях постепенное снижение к 2007 г. уровня мутагенеза сменяется последующим значимым его всплеском в 2008 г. ( $p < 0.01$  — для контрольного участка,  $p < 0.001$  — для радиевого участка). Однако на фоне однотипной динамики сохраняется достоверно высокая частота клеток костного моз-

га с микроядрами у полевок из загрязненной радиоактивными пластовыми водами территории, за исключением наблюдаемой в 2007 г., когда популяции полевок находились на стадии низкой численности [24].

Для выявления изменений генетической структуры популяции, способствующих повышению ее приспособленности к неблагоприятным условиям существования, были проведены эксперименты по оценке устойчивости полевок-экономок из природных популяций к факторам радиационной ( $\gamma$ -облучение) и нерадиационной (уретан) природы. У животных, отловленных на радиевом участке (отлов 2009 г.), обнаружен статистически значимо более высокий уровень кле-

**Таблица 2.** Цитогенетический анализ клеток костного мозга полевок-экономок, обитавших в различных радио-экологических условиях, и их модификация после уретановой интоксикации (%)**Table 2.** Cytogenetic analysis of bone marrow cells of root voles living in various radioecological conditions and their modification after urethane intoxication (%)

Группы животных	Число животных	Доля клеток с микроядрами	Митотический индекс	Доля клеток в апоптозе
Контроль	8	11.96 ± 1.18	12.3 ± 1.19	9.6 ± 1.05
Контроль+Уретан	10	21.0 ± 0.44 <sup>a</sup>	5.9 ± 0.75 <sup>a</sup>	4.8 ± 0.68 <sup>a</sup>
Радиевый	8	20.5 ± 1.56 <sup>a</sup>	8.7 ± 1.02 <sup>a</sup>	15.0 ± 1.34 <sup>a</sup>
Радиевый+Уретан	6	17.3 ± 1.68 <sup>b</sup>	5.0 ± 0.91 <sup>b</sup>	6.3 ± 1.02 <sup>b</sup>

\* Здесь в табл. 3 различия достоверны ( $p < 0.05$ ) по сравнению с <sup>a</sup> – группой “Контроль”; <sup>b</sup> – с группой “Радиевый”.

**Таблица 3.** Цитогенетические эффекты в клетках костного мозга полевок-экономок, обитавших в разных радио-экологических условиях и после острого  $\gamma$ -облучения в дозе 4 Гр (%)**Table 3.** Cytogenetic effects in bone marrow cells of root voles living in different radioecological conditions and after acute  $\gamma$ -irradiation 4 Gy (%)

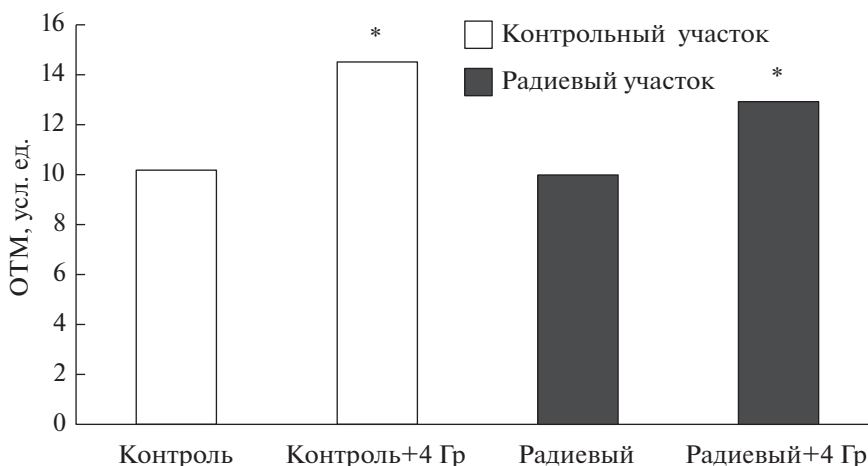
Группы животных	Число животных	Доля клеток с микроядрами	Митотический индекс	Доля клеток в апоптозе
Контроль	16	13.6 ± 1.70	5.3 ± 1.05	6.8 ± 1.76
Контроль+4 Гр	17	62.1 ± 5.56 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.78 <sup>a</sup>	13.0 ± 1.07 <sup>a</sup>
Радиевый	10	20.2 ± 3.36 <sup>a</sup>	8.6 ± 1.42 <sup>a</sup>	6.0 ± 2.13
Радиевый+4 Гр	8	49.3 ± 3.88 <sup>b</sup>	4.5 ± 1.24 <sup>b</sup>	12.9 ± 1.27 <sup>b</sup>

ток с микроядрами и клеток в апоптозе, а также более низкий митотический индекс по сравнению с данными, полученными у полевок с контрольного участка (табл. 2). Воздействие уретана способствовало угнетению апоптоза в клетках костного мозга у полевок с обоих участков, при этом, в отличие от контрольной группы, у животных радиевого участка ослабление апоптоза было менее выражено. Частота встречаемости клеток с микроядрами у полевок радиевого участка снижалась по сравнению с интактными животными с этой же территории, тогда как у контрольных полевок уретан вызывал повышение в 2 раза числа микронуклеированных клеток. Подтверждением происходящей в популяции полевок радиевого участка, перестройки генетической структуры, направленной на повышение резистентности особей к воздействию неблагоприятных факторов, были результаты экспериментов по провокационному действию ионизирующего излучения. Облучение животных (отлов 2013 г.) в дозе 4 Гр вызвало однотипную реакцию клеток костного мозга полевок контрольного и радиевого участков, выраженную в повышении частоты встречаемости клеток с микроядрами, апоптозных клеток и ДР ДНК, а также в резком снижении митотического индекса (табл. 3, рис. 3). В то же время костный мозг у полевок-экономок, обитающих в условиях повышенного уровня естественной радиоактивности, был устойчивее к дополнитель-

ному острому  $\gamma$ -облучению: у контрольных животных частота клеток с микроядрами увеличилась в 4.6 раза, тогда как у полевок с радиевого участка только в 2.4 раза (табл. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Многолетний мониторинг популяции мелких млекопитающих, обитающих на территории с повышенным уровнем естественной радиоактивности, показал, что малые дозы ионизирующего излучения обладают мутагенной эффективностью, о чем свидетельствует высокий уровень хромосомных aberrаций и микроядер в пуле клеток костного мозга полевок-экономок с радиоактивно загрязненных участков по сравнению с животными контрольного участка. Генетический анализ популяций полевок, обитающих в условиях повышенного уровня естественной радиоактивности, выявил снижение со временем темпа мутационного процесса. При этом следует подчеркнуть, что мощность экспозиционной дозы за рассматриваемый период (1983–2013 гг.) существенно не изменялась, оставаясь в среднем на уровне 4 мкГр/ч. Исследования, проведенные ранее Х.А. Салеевым в 1972 г., показали превышение хромосомных aberrаций в костном мозге облученных животных над контрольным уровнем в 7–12 раз [25]. Через 11 лет (1983 г.) по нашим результатам частота различных типов цитогенети-



**Рис. 3.** Двунитевые разрывы ДНК в клетках костного мозга полевков-экономок, обитавших на контрольном и радиевом участках и после острого  $\gamma$ -облучения в дозе 4 Гр.

\* Различия достоверны ( $p < 0.05$ ) по сравнению с интактными животными (до острого облучения).

**Fig. 3.** DNA double-strand breaks in the bone marrow cells of root voles living in the control and radium plots and after acute  $\gamma$ -irradiation at a dose of 4 Gy.

\* Differences are significant ( $p < 0.05$ ) compared with intact animals (before acute irradiation).

ческих повреждений в клетках костного мозга полевков, обитавших в условиях повышенного радиационного фона, превышала спонтанный уровень уже только в 3–4 раза. Схожие результаты были получены и на других видах. У голубых бабочек (*Zizeeria maha*), отловленных после аварии на АЭС в Фукусиме, обнаружены адаптационные перестройки [1]. У крупного рогатого скота, пострадавшего от этой аварии к 2013 г., уменьшилась доля повреждений ДНК [26]. В работе [2] отмечено, что частота сцепленных с полом рецессивных летальных мутаций у *Drosophila melanogaster* из 30-километровой зоны ЧАЭС была снижена в последующих поколениях по сравнению с данными, наблюдаемыми у более ранних поколений.

На урано-радиевом участке, который содержит не только радиоактивные, но и химически токсичные элементы, в десятки и сотни раз превышающие фоновые значения, нами обнаружены животные с измененным кариотипом ( $2n = 31$ ), возникшим в результате Робертсоновской перестройки хромосомы m11, что свидетельствует о нестабильности их генома. Подобные мутации найдены у изолятов полевки-экономки в горных районах Скандинавии на границе ареала, где вид характеризуется генетической нестабильностью [27]. Наследуемые изменения генома также обнаружены у мышевидных грызунов из природных популяций, обитающих на территориях, загрязненных радионуклидами техногенного происхождения. Так, при цитогенетическом исследовании животных из района Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС) выявлены кариотипические мутанты обыкновенной полевки (*Microtus arvalis* Pall.) с хромосомной конституцией 45,X0 [28].

В зоне влияния Тощкого радиоактивного полигона в популяции восточноевропейской полевки (*Microtus rossiaemeridionalis* Ognev) присутствовали особи с мутантным кариотипом 53,X0 [29] и самки этого вида с мужским набором хромосом XY [30]. Подобных изменений в кариотипе животных, обитающих в природных условиях, не подвергнутых радиоактивному воздействию, авторы цитируемых работ не отмечали, что позволило предполагать радиационную природу регистрируемых мутаций. В наших исследованиях выявленные у животных, обитавших на участках, различающихся между собой генезисом источников поступления в окружающую среду повышенных концентраций естественных радиоактивных элементов (радиевый и урано-радиевый участки), aberrации преимущественно хромосомного типа, повышенное содержание анеуплоидных клеток, мутации кариотипа, а также тот факт, что в течение этого же времени у полевков-экономок контрольного участка уровень мутагенеза оставался прежним, свидетельствуют о радиационной природе наблюдаемых изменений.

Малые и сопредельные с ними дозы ионизирующей радиации в большинстве случаев ускоряют или специфически направляют микроэволюционные процессы, изменяя генетическую структуру популяций, находящихся в непосредственном контакте с мутагенами [31, 32]. Дестабилизация генома, индуцированная облучением, может заметно изменить скорость микроэволюционных событий и привести как к радиоадаптации, так и к элиминации наиболее радиочувствительных популяций или видов [33]. Было показано, что у

грызунов рода *Ellobius*, обитающих в основании ВУРСа, в результате отбора радиорезистентных форм и действия случайных факторов произошла адаптивная перестройка и, как следствие, повышение радиорезистентности. Успешной радиоадаптации способствовали эколого-физиологические характеристики слепушонок: подземно-колониальный образ жизни, низкая вагильность, изоляция, обусловленная обитанием на крайней северной границе ареала, которая повышает вероятность распространения вновь возникающих мутаций путем генетического дрейфа [34, 35].

Подтверждением происходящей в популяции полевок, обитающих в условиях повышенного фона естественной радиоактивности, перестройки генетической структуры, направленной на повышение резистентности особей к воздействию неблагоприятных факторов, явились результаты экспериментов по провокационному действию факторов. В проведенном нами ранее исследовании щитовидной железы у полевок-экономок, испытывающих хроническое воздействие облучения в малых дозах в природной среде на изучаемых участках, также обнаружено повышение ее устойчивости к действию факторов радиационной и нерадиационной природы [36, 37]. Это свидетельствует в пользу того, что при длительном обитании популяции полевок-экономок в условиях повышенного радиационного фона происходит перестройка работы системы защиты клеток. Напряженная работа системы защиты генома клеток костного мозга у облученных животных направлена на усиление репарации ДНК, о чем косвенно свидетельствует замедление митотического цикла, и на элиминацию клеток с невосстановленными повреждениями. Тем не менее усиление защиты генома не приводило к снижению частоты клеток с микроядрами до уровня, характерного для животных контрольного участка. Ответная реакция на неблагоприятные факторы среды часто носит неспецифический характер и может проявляться через повышенную устойчивость популяций к острым воздействиям другой природы [38]. Повышенная устойчивость к действию дополнительных факторов у животных, испытывающих длительное воздействие ионизирующего излучения в среде обитания, описывается в ряде работ [39–42]. Повреждающие факторы при воздействии в малых дозах могут индуцировать адаптивный ответ [43], который в отношении уровня повреждения ДНК предположительно обусловлен увеличением эффективности репарации ДНК и элиминации клеток с невосстановимыми повреждениями ДНК. Тяжелые естественные радионуклиды в условиях их постоянно высокого содержания в среде обитания оказывают мутагенное воздействие на животных и запускают цепь микроэволюционных преобразований в популяциях для последующего отбора наиболее приспособ-

ленных особей. В свою очередь такой отбор, являющийся одним из основных инструментов микроэволюции, привел к изменению неспецифической резистентности организма в направлении развития устойчивости полевок из природных популяций, обитающих в условиях хронического воздействия радионуклидов уранового и ториевого рядов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что повышенный фон естественной радиоактивности выступает в роли фактора, изменяющего генетическую структуру популяций животных и приводящего к превышению среднепопуляционных частот структурных перестроек хромосом над уровнем, наблюдаемым у особей с фоновых территорий, и изменениям кариотипа в результате разделения хромосомы по центромере, что является проявлением нестабильности генома. При длительном обитании животных (более 100 поколений) на радиоактивно загрязненной территории было отмечено постепенное снижение частоты повреждений ДНК в клетках костного мозга, при том, что уровень радиоактивного загрязнения существенно не изменялся. В то же время в условиях повышенного фона естественной радиоактивности действует стабилизирующий отбор, направленный на элиминацию генетического груза, а также изменение защиты генома, что способствует формированию повышенной резистентности костного мозга в ответ на действие провокационных факторов разнородной природы.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены в рамках госзадания по теме «Действие ионизирующего излучения и факторов нерадиационной природы на биологические объекты и биогеенная миграция тяжелых естественных радионуклидов» ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ 122040600024-5).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Taira W., Hiyama A., Nohara C. et al.* Ingestional and transgenerational effects of the Fukushima nuclear accident on the pale grass blue butterfly // *J. Radiat. Res.* 2015. V. 56. № 1. P. i2–i18. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrv068>
2. *Hancock S., Vo N.T.K., Byun S.H. et al.* Effects of historic radiation dose on the frequency of sex-linked recessive lethals in *Drosophila* populations following the Chernobyl nuclear accident // *Environ. Res.* 2019. V. 172. P. 333–337. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.02.014>
3. *Cannon G., Kiang J.G.* A review of the impact on the ecosystem after ionizing irradiation: wildlife population // *Int. J. Radiat. Biol.* 2020. P. 1–9. <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1793021>
4. *Мазурик В.К., Михайлов В.Ф.* Радиационно-индуцированная нестабильность генома: феномен, мо-

- лекулярные механизмы, патогенное значение // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 3. С. 272–289. [Mazurik V.K., Mikhajlov V.F. Radiatio-ninduced genome instability: the phenomenon, molec-ular mechanisms, pathogenetical significance // Ra-diats. biology. Radioecology. 2001. V. 41. № 3. P. 272–289. (In Russ.)]
5. Кичигин А.И., Таскаев А.И. “Водный промысел”: история производства радия в Республике Коми (1931–1956 гг.) // Вопр. истории естествознания и техники. 2004. № 4. С. 3–30. [Kichigin A.I., Taskaev A.I. “Vodnyu promysel”: istoriya proizvodstva radiya v Re-spublike Komi (1931–1956 gg.) // Voprosy istorii es-testvoznaniya i tekhniki. 2004. V. 4. P. 3–30. (In Russ.)]
  6. Евсеева Т.И., Бельх Е.А., Майстренко Т.А. и др. Ла-теральное распределение радионуклидов ураново-го и ториевого рядов в антропогенно-измененных почвах на территории складирования отходов ра-диевского производства // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 1. С. 103–112. [Evseeva T.I., Belykh E.A., Maystrenko T.A. et al. Regularities of Late-ral Distribution of Uranium and Thorium Decay Series Radionuclides in the Anthropogenically Changed Soils from the Area of Radium Production Waste Storage // Radiats. biology. Radioecology. 2012. V. 52. № 1. P. 103–112. (In Russ.)]
  7. Алексахин Р.М., Архипов Н.П., Бархударов Р.М. и др. Тяжелые естественные радионуклиды в биосфере: Миграция и биологическое действие на популя-ции и биоценозы / Под ред. Р.М. Алексахина. М.: Наука, 1990. 368 с. [Alexakhin R.M., Arkhipov N.P., Barkhudarov R.M. et al. Heavy Natural Radionuclides in Biosphere: Migration and Biological Effects on Po-pulation and Biogeocenoses / Pod red. P.M. Aleksahina M.: Nauka, 1990. 368 p. (In Russ.)]
  8. UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly with scientific Annexes. Sources and effects of ionizing radi-ation. Annex E. Effects of ionizing radiation on non-human biota. V. 2. New York: United Nations, 2008. P. 221–313.
  9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. Available from: <http://www.world-lit.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.htm>. Ac-cessed January 20, 2022.
  10. Орлов В.Н., Чудиновская Г.А., Крюкова Е.П. Иссле-дование хромосомных наборов млекопитающих. М.: Наука, 1976. 36 с. [Orlov V.N., Chudinovskaya G.A., Kryukova E.P. Issledovanie khromosomnykh naborov mlekopitayushchikh. M.: Nauka, 1976. 36 p. (In Russ.)]
  11. Hedlle J.A. A rapid in vivo test for chromosomal da-mage // Mutat. Res. 1973. V. 18. № 2. P. 187–190. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(73\)90035-3](https://doi.org/10.1016/0027-5107(73)90035-3)
  12. Жулева Л.Ю., Дубинин Н.П. Использование микро-ядерного теста для оценки экологической обста-новки в районах Астраханской области // Генети-ка. 1994. Т. 30. № 7. С. 999–1004. [Zhuleva L.Yu., Du-binin N.P. Ispolzovanie mikroyadernogo testa dlya otsenki ekologicheskoy obstanovki v rayonakh Astra-khanskoj oblasti // Genetika. 1994. V. 30. № 7. P. 999–1004. (In Russ.)]
  13. Руководство по краткосрочным тестам для выяв-ления мутагенных и канцерогенных химических веществ. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Женева: ВОЗ, 1989. № 51. 212 с. [Rukovodstvo po kratkosrochnym testam dlya vyyav-leniya mutagennykh i kantserogennykh khimicheskikh veshchestv. Gigienicheskie kriterii sostoyaniya okru-zhayushchey sredy. Zheneva: VOZ, 1989. № 51. P. 212. (In Russ.)]
  14. Тронов В.А., Никольская Т.А., Конопляников М.А. и др. Спонтанная гибель мононуклеарных клеток, по-лученных от здоровых доноров и больных систем-ной красной волчанкой // Цитология. 1999. Т. 41. № 5. С. 400–404. [Tronov V.A., Nikolskaya T.A., Ko-noplyanikov M.A. et al. Spontannaya gibel mononuk-learnykh kletok, poluchennykh ot zdorovykh donorov i bolnykh sistemnoy krasnoy volchankoy // Tsitologiya. 1999. V. 41. № 5. P. 400–404. (In Russ.)]
  15. Singh N.P., McCoy M.T., Nice R.R. et al. A simple tech-nique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells // Exp. Cell Res. 1988. V. 175. № 1. P. 184–191. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
  16. Olive P.L., Banath J.P. Induction and rejoining of radi-ation induced DNA single-strand breaks: “tail mo-ment” as a function of position in the cell cycle // Mutat. Res. (DNA Repair). 1993. V. 294. P. 275–283. [https://doi.org/10.1016/0921-8777\(93\)90010-e](https://doi.org/10.1016/0921-8777(93)90010-e)
  17. Воробьева Н.Ю., Осипов А.Н., Пелевина И.И. Чув-ствительность лимфоцитов периферической кро-ви летчиков и космонавтов к воздействию  $\gamma$ -излу-чения: индукция двунитевых разрывов ДНК // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2007. Т. 144. № 10. С. 404–407. [Vorobyeva N.Yu., Osipov A.N., Pelevina I.I. Chuvstvitel'nost limfotsitov perifericheskoy krovi let-chikov i kosmonavtov k vozdeystviyu  $\gamma$ -izlucheniya: in-duktsiya dvunitevykh razryvov DNK // Bulletin of Ex-perim. Biol. and Med. 2007. V. 144. № 10. P. 404–407. (In Russ.)]
  18. Общая генетика / Под ред. Н.И. Шапиро. М.: На-ука, 1965. 299 с. [Obshchaya genetika / Pod red. N.I. Shapiro. M.: Nauka, 1965. 299 p. (In Russ.)]
  19. Nomura T. X-ray induced germ-line mutation leading to tumors; its manifestation in mice given urethane postnatally // Mutat. Res. 1983. V. 121. P. 59–65. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(83\)90087-8](https://doi.org/10.1016/0165-7992(83)90087-8)
  20. Vorobtsova I.E., Kitaev E.M. Urethane-induced lung adenomas in the first-generation progeny of irradiated male mice // Carcinogenesis. 1988. V. 9. № 11. P. 1931–1934. <https://doi.org/10.1093/carcin/9.11.1931>
  21. Бородкин П.А., Сусликов В.И., Башлыкова Л.А. Ци-тогенетическое исследование микропопуляций полевки-экономки (*Microtus oeconomus* Pall.), оби-тающих в различных радиоэкологических услови-ях // Радиобиология. 1988. Т. 28. № 3. С. 356–361. [Borodkin P.A., Suslikov V.I., Bashlykova L.A. Tsitoge-neticheskoe issledovanie mikropopulyatsiy polevki-ekonomki (*Microtus oeconomus* Pall.), obitayushchikh v razlichnykh radioekologicheskikh usloviyakh Radiobi-ologiya. 1988. V. 28. № 3. P. 356–361. (In Russ.)]
  22. Орлов В.Н., Булатова Н.Ш. Сравнительная цитогене-тика и кариосистематика млекопитающих. М.:



- Наука, 1983. 405 с. [Orlov V.N., Bulatova N.Sh. Spavnitel'naya tsitogenetika i kariosistematika mlekopitayushchikh. M.: Nauka, 1983. 405 p. (In Russ.)]
23. *Таскаев А.И., Башлыкова Л.А., Зайнуллин В.Г.* Эколого-генетический мониторинг мышевидных грызунов из популяций, подвергшихся хроническому облучению // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. № 5. С. 560–571. [Taskaev A.I., Bashlykova L.A., Zaynullin V.G. Ecological and Genetic Monitoring of Muridae from Populations Undergone to the Chronic Irradiation // Radiats. biology. Radioekology. 2010. V. 50. № 5. P. 560–571. (In Russ.)]
  24. *Ермакова О.В., Раскоша О.В.* Популяционная характеристика полевки-экономки в радиоэкологических исследованиях // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 2. 101–107. [Ermakova O.V., Raskosha O.V. Populyatsionnaya kharakteristika polevki-ekonomki v radioekologicheskikh issledovaniyakh // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2019. № 2. 101–107.] (In Russ.)  
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-2-101-107>
  25. *Салаяев Х.А.* Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга полевок-экономок, обитающих на участках с нормальным и повышенным фоном естественной радиации // Вопросы радиоэкологии наземных биогеоценозов. Сыктывкар, 1974. С. 101–103. (Труды Коми фил. АН СССР). [Salyaev Kh. A. Chastota khromosomnykh aberratsiy v kletkakh kostnogo mozga polevok-ekonomok, obitayushchikh na uchastkakh s normalnym i povyshennym fonom estestvennoy radiatsii. Voprosy radioekologii nazemnykh biogeotsenozov. Syktyvkar, 1974. P. 101–103. (Trudy Komi fil. AN SSSR). (In Russ.)]
  26. *Nakamura A.J., Suzuki M., Redon C.E. et al.* The causal relationship between DNA damage induction in bovine lymphocytes and the Fukushima nuclear power plant accident // Radiat. Res. 2017. V. 187. № 5. P. 630–636. Epub 2017 Feb 27.  
<https://doi.org/10.1667/RR14630.1>
  27. *Fredga K., Persson F., Stenseth N. Chr.* Centric fission in *Microtus oeconomus*. A chromosome study of isolated population in Fennoscandia // Hereditas. 1980. V. 92. № 2. P. 209–216.
  28. *Нохрин Д.Ю.* Хромосомные нарушения у обыкновенных полевок (*Microtus arvalis*) из района ВУРСа и их потомков, полученных в лаборатории // Конф. “Механизмы поддержания биологического разнообразия”. Екатеринбург, 1995. С. 204–207. [Nokhrin D.Yu. Khromosomnye narusheniya u obyknovennykh polevok (*Microtus arvalis*) iz rayona VURSa i ikh potomkov, poluchennykh v laboratorii // Konf. “Mekhanizmu podderzhaniya biologicheskogo raznoobraziya”. Ekaterinburg, 1995. P. 204–207. (In Russ.)]
  29. *Нохрин Д.Ю.* Цитогенетическая и онтогенетическая нестабильность у видов-двойников обыкновенной полевки из лабораторных колоний и природных популяций при разной степени загрязнения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 1999. 15 с. [Nokhrin D. Yu. Tsitogeneticheskaya i ontogeneticheskaya nestabilnost u vidov-dvoynikov obyknovennoy polevki iz laboratornykh koloniy i prirodnykh populyatsiy pri raznoy stepeni za-
  - gryazneniya [disstrtation]. Ekaterinburg, 1999. 15 p. (In Russ.)]
  30. *Гилева Э.А.* Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). Екатеринбург: Изд-во Уральского университета, 1997. 105 с. [Gileva E.A. Ekologo-geneticheskii monitoring s pomoshchyu gryzunov (uralskiy opyt). Ekaterinburg: Izdatelstvo Uralskogo universiteta, 1997. 105 p. (In Russ.)]
  31. *Шевченко В.А., Померанцева М.Д.* Генетические последствия действия ионизирующих излучений / Отв. ред. Г.Д. Засухина. М.: Наука, 1985. 278 с. [Shevchenko V.A., Pomerantseva M.D. Geneticheskie posledstviya deystviya ioniziruyushchikh izlucheniyy / Otv. red. G.D. Zasukhina. M.: Nauka, 1985. 278 p. (In Russ.)]
  32. *Sugahara T., Tsutomu T.* Genetic effects of chronic irradiation given to mice throw three successive generations // Genetics. 1964. V. 50. № 5. P. 1143–1158.
  33. *Соколов В.Е., Покаржевский А.Д., Кожевникова Т.Д. и др.* Популяции млекопитающих на территории Восточно-уральского радиоактивного следа // Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале / Отв. ред. В.Е. Соколов, Д.А. Криволуцкий. М.: Наука, 1993. С. 156–171. [Sokolov V.E., Pokarzhevskiy A.D., Kozhevnikova T.D. i dr. Populyatsii mlekopitayushchikh na territorii Vostochno-uralskogo radioaktivnogo sleda Ekologicheskie posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya na Yuzhnom Urале / Otv. red. V.E. Sokolov, D.A. Krivoluckij. M.: Nauka, 1993. P. 156–171. [Sb. st.] (In Russ.)]
  34. *Гилева Э.А.* Хромосомная нестабильность у грызунов с территории ВУРСа: межвидовая разница // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 6. С. 665–668. [Gileva E.A. Khromosomnaya nestabilnost u gryzunov s territorii VURSa: mezhvidovaya raznitsa // Radiats. biology. Radioekology. 2002. V. 42. № 6. P. 665–668. (In Russ.)]
  35. *Григоркина Е.Б., Пашина И.А.* К проблеме радиоадаптации мелких млекопитающих (экологическая специализация вида, радиорезистентность, гемопоэз, иммунитет) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 3. С. 371–378. [Grigorkina E.B., Pashnina I.A. On the Problem of Radioadaptation in Small Mammals (Ecological Specialization of a Species, Radioresistance, Hemopoiesis, Immunity) // Radiats. biology. Radioekology. 2007. V. 47. № 3. P. 371–378. (In Russ.)]
  36. *Ермакова О.В., Раскоша О.В.* Состояние щитовидной железы полевок-экономок с радиоактивных территорий после дополнительных воздействий // Изв. Самарского НЦ РАН. 2012. Т. 14. № 1–8. С. 1891–1893. [Ermakova O.V., Raskosha O.V. Condition of tundra voles of thyroid gland from radioactive territories after padding influences // Izvestiya Samarskogo NC RAN. 2012. V. 14. № (1–8). P. 1891–1893. (In Russ.)]
  37. *Раскоша О.В.* Оценка устойчивости клеток щитовидной железы полевок-экономок, обитающих в разных радиоэкологических условиях после дополнительных воздействий, методом ДНК-комет // Изв. Уфимского НЦ РАН. Биология, биохимия,

- генетика. 2018. Т. 3. № 5. С. 5–11. [Раскоша О.В. Оценка устойчивости клеток щитовидной железы полевок-экономок, обитающих в разных радио-экологических условиях после дополнительных воздействий, методом ДНК-комет // *Izvestiya Ufimskogo NC RAN. Biologiya, biohimiya, genetika*. 2018. V. 3. № 5. P. 5–11. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31040/2222-8349-2018-5-3-5-11>
38. Удалова А.А., Гераськин С.А. Временная динамика и эколого-генетическая изменчивость цитогенетических эффектов в испытывающих техногенное воздействие популяциях сосны обыкновенной // *Журн. общей биологии*. 2011. Т. 72. № 6. С. 455–471. [Udalova A.A., Geraskin S.A. Vremennaya dinamika i ekologo-geneticheskaya izmenchivost tsitogeneticheskikh effektov v ispytyvayushchikh tekhnogennoe vozdeystvie populyatsiyakh sosny obyknovnoy // *Zhurnal obshchey biologii*. 2011. V. 72. № 6. P. 455–471. (In Russ.)]
39. Ильенко А.И., Крапивко Т.П. Ревизия радиорезистентности десятого поколения рыжих полевок (*Clethrionomys glareolus*) – цериофоров // *Докл. АН СССР*. 1991. № 2. С. 498–500. [Ilyenko A.I., Krapivko T.P. Reviziya radiorezistentnosti desyatogo pokoleniya ryzhikh polevok (*Clethrionomys glareolus*) – tserioforov // *Dokl. AN SSSR*. 1991. № 2. P. 498–500. (In Russ.)]
40. Фетисов А.Н., Смагин А.И., Рубанович А.В. Морфометрическая характеристика и сравнительная радиостойчивость популяции прудовика большого (*Limnea stagnalis*) из водоемов с различными радиоэкологическими условиями // *Радиобиология*. 1993. Т. 33. № 1. С. 160–165. [Fetisov A.N., Smagin A.I., Rubanovich A.V. Morfometricheskaya kharakteristika i sravnitel'naya radioustoychivost populyatsii prudovika bolshogo (*Limnea stagnalis*) iz vodoemov s razlichnymi radioekologicheskimi usloviyami // *Radiobiology*. 1993. V. 33. № 1. P. 160–165. (In Russ.)]
41. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Безель В.С. и др. Пути адаптации ценопопуляций одуванчика лекарственного к длительному химическому и радиационному воздействию // *Экология*. 2006. № 6. С. 1–7. [Pozolotina V.N., Antonova E.V., Bezel V.S. et al. Pathways of adaptation of common dandelion cenopopulations to long-term chemical and radiation influences // *Ekologiya*. 2006. № 6. P. 1–7. (In Russ.)]
42. Маленченко А.Ф., Сушко С.Н., Савин А.О. и др. Оценка спонтанного и химически индуцированного мутагенеза у мышевидных грызунов, находившихся в условиях техногенно- и природноповышенного радиационного фона // *Вопр. радиац. безопасности*. 2011. № 3. С. 20–26. [Malenchenko A.F., Sushko S.N., Savin A.O. et al. Assessment of the processes of spontaneous and chemically induced mutagenesis in mouse-like rodents inhabiting areas with technologically enhanced and naturally occurred high level of radioactivity // *Voprosy rad. bezop.* 2011. № 3. P. 20–26. (In Russ.)]
43. Газиев А.И. Возможность индукции адаптивного ответа клеток на воздействие ионизирующей радиации // *Радиобиология*. 1986. Т. 26. № 4. С. 447–452. [Gaziev A.I. Vozmozhnost' induktsii adaptivnogo otveta kletok na vozdeystvie ionizirujushhej radiatsii // *Radiobiology*. 1986. V. 26. № 4. P. 447–452. (In Russ.)]

## Cytogenetic Effects in the Bone Marrow of Animals Living in Conditions of Increased Natural Radiation Background

L. A. Bashlykova<sup>a,#</sup> and O. V. Raskosha<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biology, FRC Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: labashlykova@ib.komisc.ru*

We studied the cytogenetic effects in the bone marrow cells of root voles (*Alexandromys (Microtus) oeconomus* Pall.), which lived in areas contaminated with uranium and radium, as a result of the operation of radium mining (radium site) and the storage of its waste (uranium-radium site) (Komi Republic). The level and nature of mutational effects in voles from radioactively contaminated areas indicates the persistence of an increased frequency of chromosome aberrations and the appearance of individuals with an altered karyotype, which indicates genetic instability. When determining the nature of the dynamics of the mutation process in the studied populations, a high frequency of cells with micronuclei was noted in voles from the radium area, with the exception of the phase of population decline. In experiments with the use of provocative factors of chemical (urethane) and radiation (acute  $\gamma$ -irradiation) nature, an increase in the stability of bone marrow cells of animals living in conditions of increased background radiation has been shown.

**Keywords:** increased background of natural radioactivity, housekeeper vole, bone marrow, genome instability, resistance to additional factors