



УДК 575.16

М. Р. Столина

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКИХ ДОЗ СОЧЕТАННОГО ВНЕШНЕГО И ВНУТРЕННЕГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ ЛИНИИ СС57W

Представлены результаты исследования влияния малых доз постоянного внешнего и внутреннего излучения низкой интенсивности на половые клетки самцов и самок мыши. Высокий уровень доимплантационных потерь наблюдался в потомстве самцов и самок, первичные половые клетки которых подвергались радиационному воздействию на стадиях размножения и роста. Для самок критической является пренатальная стадия развития, для самцов — первые дни постнатального развития, т. е. начало процесса закладки стволовых сперматогониев в сперматогенном эпителии семенников.

Введение. Генетические последствия действия малых доз облучения на организм человека оценивают в модельных экспериментах на млекопитающих. Лабораторных мышей обычно подвергают фракционированному общему или локальному воздействию различных доз ионизирующих излучений и (или) инкорпорированных радионуклидов, поступающих в организм в виде аэрозолей, растворов и с пищей. Исследователи определяют частоту возникновения генетических аномалий в половых клетках облученных самцов и их F₁-потомков [1—3]. Эксперименты, проводимые на самках мышей, заключаются, как правило, в определении дозы облучения, вызывающей генетические и тератогенные изменения у плода [1, 4—6] либо нарушения взаимоотношений «мать — плод» [7, 8]. По нашему мнению, не менее важен и анализ генетического эффекта постоянного внешнего и внутреннего воздействия малых доз излучений низкой интенсивности в премейотических первичных половых клетках. Следствием такого воздействия могут быть мутации, сохраняющиеся в течение всего репродуктивного периода у половозрелых животных.

В настоящей работе представлены результаты изучения частоты возникновения генетических нарушений у самцов и самок мышей СС57W, экспонированных в 30-км зоне ЧАЭС в ряду поколений.

Материалы и методы. Исследования проводили на самцах и самках мышей линии СС57W из Чернобыльской (специвиарий Ин-та молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Чернобыль) и Киевской (виварий института) экспериментальных популяций синхронно в ряду поколений. Величина дозы облучения для животных Чернобыльской популяции была на порядок и более выше, чем в условиях Киевского вивария. Внутреннюю радиационную нагрузку создавали за счет радионуклидов, поступающих в организм ингаляционным и перкутаным путями, а также с пищевыми добавками. Внешний γ -фон в помещении специвиария (Чернобыль) колебался в пределах 70—100 мкР/ч, удельная активность радионуклидов в зеленой массе корма — 592 Бк/кг. Эффект воздействия малых доз внешнего и внутреннего излучения изучали с помощью теста на выявление эмбриональных потерь в потомстве самцов и самок, относящихся к экспериментальной (Чернобыльской —

© М. Р. Столина, 1993

Ч) и контрольной (Киевской — К) группам. В опытах использованы половозрелые 3—5-месячные животные из 2—3-го пометов соответственно поколениям. Скрещивания проводили в Киевском виварии ИМБГ АН Украины по следующим схемам:

1. 3 самки К × 1 самец К
2. 3 —»— К × 1 —»— Ч
3. 3 —»— Ч × 1 —»— К
4. 3 —»— Ч × 1 —»— Ч

Животных экспериментальной группы брали для скрещивания через три дня после окончания экспозиции в 30-км зоне ЧАЭС. Эмбриональные потери анализировали, вскрывая на 16—18-й день беременные самки. По соотношению числа желтых тел в яичниках, мест имплантации и живых эмбрионов в рогах матки определяли уровень до- и постимплантационной смертности.

Результаты и обсуждение. Доимплантационная смертность потомства, полученного в контрольных скрещиваниях (4,5%), соответствует таковой для ряда инбредных линий мышей [9]. В случаях спаривания самцов двух поколений из экспериментальных групп животных с интактными самками доля зародышей, погибших до имплантации, была достоверно выше, чем в контроле (в 2,5 раза). Постимплантационная смертность эмбрионов в потомстве F₁-самцов не отличалась по группам скрещивания, а в потомстве F₂-самцов была несколько выше у контроля (табл. 1).

Вне зависимости от поколения и групповой принадлежности самцов при скрещиваниях доимплантационная гибель зародышей была достоверно выше контрольного показателя у самок из экспериментальной популяции. Постимплантационные потери в потомстве Чернобыльских и Киевских самок не различались как по поколениям, так и по типам скрещивания (табл. 2).

Особый интерес представляют данные по исследованию эмбриональных потерь в потомстве F₃-животных. Зачатие, вынашивание, вскармливание и развитие до 1—1,5 месяца третьего поколения мышей проходило в спецвиварии Чернобыля в семьях, сформированных из половозрелых животных второго поколения Киевской популяции. Уровень до- и постимплантационной смертности в потомстве самцов не отличался от контрольного (см. табл. 1). А у F₃-самок гибель зародышей до имплантации соответствовала таковой в потомстве самок из Чернобыльской популяции (см. табл. 2).

При обсуждении полученных результатов необходимо учитывать то обстоятельство, что для скрещивания брали животных, экспонированные которых в зоне ЧАЭС составляло 4—6 месяцев (с учетом пре-

Таблица 1
Эмбриональная смертность в потомстве самцов Чернобыльской (Ч)
и Киевской (К) популяций

Поколение	Тип скрещивания. ♀ × ♂	Число беременных самок**	Количество			Смертность, %	
			желтых тел	мест имплантации	живых эмбрионов	До имплантации	После имплантации
F ₁	К × Ч	104	972	964	612	9,5 ± 1,1 (p > 0,95)	29,8 ± 1,5
	К × К	29	256	246	170	4,5 ± 1,3	30,6 ± 2,9
F ₂	К × Ч	136	1315	1152	778	12,4 ± 1,8 (p > 0,95)	32,5 ± 2,7
	К × К	20	186	177	106	4,8 ± 1,6	40,1 ± 3,7
F ₃ *	К × Ч	64	610	570	362	6,6 ± 1,0	36,5 ± 3,7

* Самцы находились в спецвиварии Чернобыля с момента зачатия до 1—1,5-месячного возраста (потомки F₂-животных из Киевской популяции); ** самки из Киевской популяции (соответственно по поколениям).

натального развития), а время экспозиции родительских семей — 8—9 месяцев. Стабильно высокие доимплантационные потери в потомстве двух поколений экспериментальных животных, возможно, объясняются мутагенным действием малых доз ионизирующих излучений и инкорпорированных радионуклидов как на родительский организм, так и на первичные половые клетки эмбрионов, заселяющие гонады еще в пренатальный период [10]. Высокие доимплантационные потери в потомстве F₃-самок связаны, по-видимому, с тем, что стадии размножения и роста ооцитов у них проходили во время экспозиции в Чернобыле. Известно, что размножение, рост и созревание мужских клеток зачаткового эпителия начинаются после рождения мыши, а наиболее радиочувствителен в семеннике сперматогенный эпителий [11]. В данном случае у F₃-самцов процесс закладки большинства стволовых сперматогониев протекал в Киевском биварии. Нами не обнаружено различий по уровню постимплантационной смертности в родственных спариваниях животных, относящихся к одному поколению (см. табл. 2). Видимо, большая часть рецессивных леталей, находящихся в гетерозиготном состоянии, является генетическим грузом данных популяций гибридных мышей СС57W. При таком генетическом грузе трудно определить долю рецессивных леталей, возникших под действием облучения, так как частота индуцированных РЛМ в стволовых сперматогониях у лабораторных мышей составляет всего $(1,4 \pm 0,5) \cdot 10^{-2}$ при дозе облучения 1 Гр на геном по показателю постимплантационной смертности [12].

Таблица 2

Эмбриональная смертность в потомстве самок Чернобыльской (Ч) и Киевской (К) популяций

Поколение самок	Тип скрещивания, ♀♀×♂♂	Число беременных самок	Количество			Смертность, %	
			желтых тел	мест имплантации	живых эмбрионов	до имплантации	после имплантации
F ₁	Ч×Ч	15	129	114	72	11,6±2,8 (p>0,95)	36,8±5,7
	Ч×К	14	139	121	90	12,2±2,8 (p>0,95)	25,8±4,0
	К×К	29	259	246	170	4,5±1,3	30,6±2,9
F ₂	Ч×Ч	15	145	131	77	9,7±2,9	41,2±4,3
	Ч×К	18	157	137	90	12,7±2,7 (p>0,95)	34,3±4,1
	К×К	20	186	177	106	4,8±1,6	40,1±3,7
F ₃	Ч—К×К	19	165	146	95	11,5±2,5 (p>0,99)	34,9±3,9

Таким образом, стабильно высокий уровень доимплантационных потерь в потомстве трех поколений самок и двух поколений самцов из Чернобыльской популяции является, очевидно, следствием мутагенного действия малых доз совместного внешнего и внутреннего ионизирующего излучения на первичные половые клетки. В пользу этого может свидетельствовать факт снижения доимплантационной гибели зародышей в потомстве F₃-самцов из Чернобыльской популяции, у которых половые клетки зачаткового эпителия по условиям эксперимента проходили стадии роста и созревания без воздействия ионизирующего излучения.

Summary. The data have been obtained concerning the mutagenic effect of low-dosed environmental and incorporated irradiation on germ cells of mice males and females. The high frequency of preimplantation embryo death has been shown for mice progeny, premeiotic germ cells at the stages of their multiplication and growth having

been influenced by low-dosed irradiation. The critical developmental stages a prenatal one for females and the first postnatal days for males, because of the formation of most stem spermatogonia in testis taking start at this period.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шевченко В. А., Померанцева Л. Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений.— М.: Наука, 1985.— 278 с.
2. Померанцева Л. Д., Балонов М. И., Рамайя Л. К. и др. Сравнительное изучение генетического эффекта различных соединений трития у самцов мыши // Генетика.— 1989.— 25, № 2.— С. 277—282.
3. Guntantseva L. D., Ramaya L. K., Shevchenko V. A. et al. Evolution of the genetic effects of ^3H incorporated into mice // *Mutat. Res. and Mutat. Res. Lett.*— 1989.— 226, N 2.— P. 93—98.
4. Бочарова Л. П., Василенко О. В., Стрельникова Н. К. Зависимость изменений репродуктивной функции мышей от дозы локального облучения, проведенного в разные сроки до и после зачатия. // Радиационная гигиена.— Л., 1989.— С. 75—81.
5. Померанцева Л. Д., Рамайя Л. К. Выход генетических нарушений у мышей, подвергшихся фракционированному воздействию ионизирующих излучений в эмбриогенезе // Радиобиология.— 1989.— 30, № 3.— С. 339—343.
6. Yamada T., Ohata K., Fujii I. et al. Estimation of the absorbed radiation dose of mouse foetus taken from tritium water-drinking pregnant mouse // *J. Radiat. Res.*— 1991.— 32, N 1.— P. 91.
7. Hande P., Uma D., Jagetia G. C. Effect of in utero-exposure to low doses of low energy X-rays on the postnatal development of mouse // *Ibid.*— 1990.— 31, N 4.— P. 354—360.
8. Ricou M., Dutrillaux B. Hyper-radiosensibilite chromosomique des souris en fin de gestation // *C. R. Acad. Sci. Res.*— 1991.— 312, N 13.— P. 635—639.
9. Power-Plow J., Elliot P., Moynier B. Reproductive performans in C57Bl and I strain mice // *Lab. Anim. Sci.*— 1988.— 38, N 5.— P. 525—602.
10. Spengelmann M., Bennet D. A light and electron-microscopic study of primordial germ cells in the early mouse embryo // *J. Embryol. and Exp. Morphol.*— 1975.— 30.— P. 87—118.
11. Агарков В. А., Дунаев П. В., Пантелеев С. М. и др. Реакция тканей различной генетической природы на воздействие ионизирующей радиации // Влияние антропогенных факторов на морфогенез и структурное преобразование органов: Материалы Всерос. конф. Всерос. науч. о-ва анатомов, гистологов, эмбриологов.— Астрахань, 1991.— С. 5.
12. Померанцева Л. Д., Рамайя Л. К. Мутагенный эффект излучений разных видов на половые клетки самцов мыши // Генетика.— 1969.— 5.— С. 103—112.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев

Получено 02.11.92

УДК 575.1:577.1

В. И. Прима, Е. И. Мартыненко, Л. В. Патер, Ю. В. Вагин

ПЕРЕСТРОЙКИ ДНК В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ «ГЕНОМНОЙ ДАКТИЛОСКОПИИ»

С помощью «геномной дактилоскопии» в клетках печени крысы, регенерирующей 23 ч, обнаружены изменения автордиографического «отпечатка ДНК» в области 1.5–9 тыс. п. о. по сравнению с клетками той же печени в состоянии покоя, что может объясняться избирательной недорепликацией хромосом делящихся гепатоцитов.

Метод «геномной дактилоскопии» (или генотипоскопии) разработан при изучении полиморфизма рестрикционных фрагментов ДНК человека путем гибридизации с «минисателлитной» ДНК, т. е. тандемными повторами коротких последовательностей (11—60 п. о.) генома человека [1]. В дальнейшем оказалось, что гипервариабельные участки, гомологичные минисателлитным последовательностям, находятся в ДНК не только человека, но и всех млекопитающих, а также птиц, причем «отпечаток ДНК», проявляемый в виде набора полос с различным положением и интенсивностью, генетически закреплен для каждого индивидуума и одинаков для всех его тканей. Это обусловило широкое применение метода в популяционной генетике, генеалогических исследова-

© В. И. Прима, Е. И. Мартыненко, Л. В. Патер, Ю. В. Вагин, 1993