

На правах рукописи

**КОСАРЕВА Наталья Леонидовна**

**ДОМОВАЯ МЫШЬ (MUS MUSCULUS L.)  
КАК ИНДИКАТОР МУТАГЕННОГО  
ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ**

**03.00.08 — ЗООЛОГИЯ**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук**

**Екатеринбург 1995**

Работа выполнена в лаборатории экологических основ изменчивости организмов Института экологии растений и животных Уральского отделения РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук  
Гилева Э. А.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
Свешнова Л. М.  
кандидат биологических наук  
Ванчугова Н. Н.

Ведущая организация: Уральский государственный университет  
им. А. М. Горького

Защита состоится "25" *апреля* 1995 г. в 12<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д. 002. 05. 01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в Институте экологии растений и животных Уральского отделения РАН по адресу: 620144, Екатеринбург, 8 Марта, 202.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института экологии растений и животных УрО РАН

Автореферат разослан "23" *марта* 1995 г.

Ученый секретарь диссертационного  
совета, кандидат биологических наук, Нифонтова М. Г.



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Глобальное распространение генотоксических соединений в биосфере влечет за собой возрастание частоты спонтанных аборт и мертворождений, врожденных пороков развития и онкологических заболеваний. В этой связи генетические исследования должны стать необходимым компонентом мониторинга состояния окружающей среды.

Изучение последствий мутагенного воздействия поллютантов на человека требует значительных затрат и связано с методологическими сложностями, особенно в случаях небольших городов и деревень, где исследуемые группы населения настолько малы, что даже при наличии заметного повреждающего эффекта его оценки, полученные с помощью медико - демографического подхода, оказываются статистически незначимыми ( Гилева и др., 1992б, 1993, 1994 ). В подобных случаях тест - объектами для прогноза генетических последствий техногенного загрязнения среды могут служить мелкие млекопитающие. В последнее время появился ряд исследований, в которых объектами эколого - генетического мониторинга стали природные популяции грызунов - *Clethrionomys glareolus* ( Домарева, Самохвалова, 1981 ), *Clethrionomys rutilus*, *Arvicola terrestris*, *Microtus gregalis* ( Исенов и др., 1990 ), *Microtus arvalis* ( Lekevicius, Morkunas, 1992 ), *Microtus oeconomus* ( Зайнуллин, 1985; Зайнуллин и др., 1988; Башлыкова, Таскаев, 1990 ), *Apodemus agrarius* ( Башлыкова, Таскаев, 1990 ), *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis* ( Nikolic et al., 1992), *Mus musculus* ( Кршков, 1988, 1990; Кршков и др., 1993 ).

Наиболее адекватной моделью для выявления мутагенного эффекта среды могут стать синантропные домовые мыши, поскольку они в основном подвергаются воздействию мутагенов за счет тех же источников, что и человек ( воздух, вода, пища ). Домовые мыши повсеместно многочисленны, что делает возможным изучение больших выборок, достаточных для выявления даже слабых эффектов с высокой достоверностью ( Гилева и др., 1990, 1992 а, б, в, 1993; 1994; Косарева, 1993 ).

Цель и задачи. Цель настоящей работы состоит в оценке возможности использования домашней мыши для изучения последствий мутагенного загрязнения среды. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить генотоксические эффекты техногенного загрязнения среды в экспериментальных условиях с использованием лабораторных мышей.
2. Оценить уровень цитогенетических нарушений в популяциях

синантропных домовых мышей, обитающих на территориях, загрязненных химическими и радиоактивными мутагенами.

3. Исследовать эффекты техногенного загрязнения среды в популяциях синантропных домовых мышей на морфологическом уровне с помощью показателей флуктуирующей асимметрии и аллометрического роста краниологических признаков.

Научная новизна:

1) впервые проведено эколого - генетическое исследование населенных пунктов Среднего Урала с использованием лабораторных и синантропных популяций домовых мышей;

2) было показано, что синантропные домовые мыши являются удачными модельными животными для изучения мутагенного загрязнения среды;

3) обнаружено возрастание частоты клеток с хромосомными нарушениями в костном мозге домовых мышей под влиянием техногенных поллютантов; впервые показано, что мутагенный эффект химического загрязнения Среднего Урала сопоставим с мутагенным эффектом радиоактивного загрязнения в 30 - километровой зоне Чернобыльской АЭС в год аварии;

4) в контексте результатов цитогенетического исследования рассмотрены последствия техногенного загрязнения среды на морфологическом уровне. Впервые обнаружено уменьшение уровня флуктуирующей асимметрии у синантропных домовых мышей на территориях, загрязненных химическими и радиоактивными мутагенами.

Практическая значимость. Практическое использование результатов работы связано, прежде всего, с задачами и принципами организации эколого - генетического мониторинга регионов с интенсивной хозяйственной деятельностью.

Синантропные популяции домовых мышей могут быть рекомендованы в качестве объекта для изучения мутагенного эффекта техногенного загрязнения среды. Уровень хромосомных нарушений в костном мозге синантропных мышей можно использовать в качестве критерия степени генетического риска для популяций человека исследуемых регионов.

Апробация работы. Основные положения диссертации были опубликованы в материалах Всесоюзной конференции " Эколого - генетический мониторинг состояния окружающей среды " ( Караганда, 1990 ) и конференции " Экология и здоровье " ( Пенза, 1993 ), докладывались на заседании Уральского отделения териологического общества ( 1991 ), молодежной конференции Института экологии растений и животных УрО РАН ( 1994 ).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на **130** страницах машинописного текста. Состоит из введения, трех глав и выводов, иллюстрирована **22** рисунками и **14** таблицами. Список литературы включает **152** источников, в том числе **56** на иностранных языках.

## ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом эколого - генетических исследований послужили лабораторные и синантропные домовые мыши (*Mus musculus* L., 1758).

Для экспериментальной оценки мутагенного эффекта загрязнения городской среды были использованы пробы снежного покрова, поскольку химический состав последнего является надежным показателем степени техногенной нагрузки на ландшафты. Пробы снега собирались в районе автовокзала г.Екатеринбурга, окрестностях металлургического комбината г.Нижнего Тагила, испытывающих сильное влияние крупных промышленных объектов и автотранспорта, и в районе озера Таватуй, имеющего малую степень техногенной нагрузки. Объектом исследования были инбредные мыши BALB/c обоего пола, весом около 20 г. Трех группам мышей ( по 8 - 11 особей ) в течение недели каждый день подкожно инъецировали соответствующим образом обработанную снеговую воду в объеме 2 мл. Контрольным животным ( 9 особей ) ежедневно вводили по 2 мл физиологического раствора.

Для изучения мутагенного эффекта среды на территориях с комплексным химическим и радиоактивным загрязнением были использованы синантропные домовые мыши. Животные отлавливались в 1991-1993 годах на приусадебных участках частных домов, в жилых помещениях и административных постройках населенных пунктах Среднего Урала. В г. Первоуральске было поймано 30 животных; в поселке Новоуткинске, который расположен в 35 км на северо - запад от Первоуральска, - 20 животных. В северной части г. Екатеринбург ( территория Уральского государственного педагогического университета ) было отловлено 18 животных; в южной части г. Екатеринбург ( территория Института экологии растений и животных ) было отловлено 18 животных. В двух районах г. Каменск Уральского ( поселках Октябрьский и Ленинский ) было поймано 19 животных. В деревнях Каменского района было отловлено 25 мышей в Рыбниковском, 23 мыши - в Сосновке, 15 мышей - в Пирогово и 10 мышей в Большой Грязнухе.

Основным источником экологического неблагополучия городов Среднего Урала являются промышленные предприятия металлургохимического комплекса, загрязняющие среду тяжелыми металлами,

кислотными оксидами, фенолами, каменноугольными смолами и их производными. Загрязнение полиароматическими углеводородами, соединениями свинца и кадмия в значительной степени связано с интенсивным движением автотранспорта. Высокий уровень химического загрязнения характерен для северной части Екатеринбурга, Первоуральска, Новоуткинска, а также деревни Пирогово, рядом с которой расположены хранилища промышленных отходов Уральского алюминиевого завода. Радиоактивными выпадениями в 1957 году, в результате аварии на п/о " Маяк" Челябинской области, были задеты поселок Ленинский Каменск - Уральского и деревня Рыбниковское. Вблизи Восточно-Уральского радиоактивного следа расположена деревня Сосновка. Наименьший уровень техногенного загрязнения наблюдается в южной части Екатеринбурга, поселке Октябрьском Каменск - Уральского и деревне Большая Грязнуха.

В качестве контроля были использованы домовые мыши из поселка Советского Тюменской области, который находится в значительном отдалении от промышленных центров и автомагистралей. Там было отловлено 56 животных, по 28 в июле 1991 и 1992 годов.

Для анализа цитогенетических эффектов техногенного загрязнения был использован метафазный анализ хромосом. Из костного мозга лабораторных и синантропных мышей стандартным способом были приготовлены хромосомные препараты. В метафазных клетках костного мозга учитывали хромосомные aberrации, анеуплоидию и полиплоидию, пробелы. Для 40 лабораторных мышей BALB/c было проанализировано в среднем по 100 метафаз. В общей сложности исследовано 4095 клеток. В цитогенетическом анализе синантропных домашних мышей было использовано в общей сложности 170 животных, у которых анализировалось по 50 - 100 метафаз. В общей сложности для синантропных домашних мышей было проанализировано 11000 метафазных клеток.

Для оценки последствий мутагенного загрязнения среды на морфологическом уровне были использованы домовые мыши из пяти населенных пунктов Среднего Урала: по 18 животных из северной и южной частей г. Екатеринбурга, 27 животных из г. Первоуральска, 19 животных из поселка Новоуткинска, 25 животных из деревни Рыбниковское, 23 животных из деревни Сосновка. В качестве контроля послужили домовые мыши из поселка Советского Тюменской области 23 особи, отловленные в 1991 году, и 22 особи, отловленные в 1992 году.

Морфологическая изменчивость домашних мышей оценивалась с помощью показателей флуктуирующей асимметрии и аллометрического роста краниологических признаков. Для анализа флуктуирующей

асимметрии были использованы 4 билатерально - симметричных признака: ширина теменных костей, длина лобных костей, длина носовых костей и длина резцового отверстия. Для изучения закономерностей аллометрического роста были использованы следующие краниологические признаки: кондилобазальная длина черепа, длина лицевого черепа, длина мозгового черепа, длина диастемы верхней челюсти, длина верхнего зубного ряда, ширина скуловых дуг, наибольшая ширина мозговой части черепа, высота черепа в ушной области, наибольшая высота черепа, длина диастемы нижней челюсти, длина резцового отверстия и орбитальный диаметр.

При статистической обработке данных цитогенетического анализа были использованы  $G$  - критерий; критерий  $\chi^2$  - квадрат и  $t$  с  $\varphi$ -преобразованием долей (Урбах, 1964; Sokal, Rohlf, 1981). При статистической обработке результатов краниометрического анализа были использованы критерии  $F$ ,  $t$ ,  $\chi^2$  - квадрат и коэффициент ранговой корреляции Спирмена; для расчета аллометрических показателей был использован метод наименьших квадратов, расчет доверительных интервалов производился при вероятности 0,95 (Рокицкий, 1967; Плохинский, 1980; Sokal, Rohlf, 1981; Глотов и др., 1982).

## ГЛАВА 2. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ У ДОМОВЫХ МЫШЕЙ

### 2.1 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАФАЗНОГО АНАЛИЗА ХРОМОСОМ *IN VIVO* ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ МУТАГЕНОВ СРЕДЫ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

В настоящее время для скрининга мутагенов существует более 100 тестов и большое разнообразие чувствительных тест-систем - от бактериальных до культур клеток человека. Несмотря на высокую разрешающую способность современных методов оценки мутагенности, наибольшие возможности для экстраполяции получаемых результатов на человека представляют исследования на млекопитающих *in vivo*, позволяющие адекватно отразить процессы генотоксического влияния на целый организм. Для оценки мутагенных эффектов загрязнения среды Всемирной организацией здравоохранения (1989) был рекомендован метафазный анализ хромосом в клетках костного мозга. В данном разделе обсуждаются возможности этого метода исследования, а также особенности спонтанного и индуцированного кластогенеза в костном мозге лабораторных мышей. На основе обзора литературных данных сделан вывод о том, что для изучения мутагенных эффектов загрязнения среды удачной тест-системой является костный мозг, а надежным методом исследования - метафазный анализ хромосом.

## 2.2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ BALB/c.

Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 1. С помощью G - критерия была проведена проверка всех цитогенетических показателей на внутригрупповую однородность. По частоте клеток с хромосомными aberrациями, частоте клеток с хромосомными пробелами, суммарной частоте анеуплоидных и полиплоидных клеток все выборки были однородны, поэтому частоты поврежденных клеток у мышей из разных вариантов сравнивались на суммированном для всех животных из каждой выборки материале, также с помощью G - критерия.

Средний уровень клеток с хромосомными aberrациями у контрольных животных составил 1,67 %. Эта величина соответствует оценкам, полученным другими авторами для лабораторных мышей. По частоте aberrантных клеток животные II варианта не отличаются достоверно от контроля. В то же время у мышей III и IV вариантов наблюдается статистически значимое повышение этого показателя более, чем в 2 раза. Результаты цитогенетического анализа позволяют сделать вывод о кластогенной активности поллютантов, накопленных в снеговых покровах районов автовокзала г. Екатеринбурга и Металлургического комбината г. Нижнего Тагила; тогда как уровень мутагенного загрязнения окрестностей озера Таватуй можно считать близким к фоновому.

Достоверные различия между вариантами по частоте анеуплоидных и полиплоидных клеток не наблюдались. Возможно, одной из причин отсутствия анеугенной активности поллютантов, содержащихся в снеговой воде, могла быть их метаболическая трансформация в организме животных. По частоте клеток с пробелами статистически значимые различия между вариантами также отсутствовали.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Использование лабораторных мышей и снеговой воды позволяет выявить мутагенный эффект загрязнения среды.

2. Достоверное увеличение частоты aberrантных клеток у животных III и IV вариантов свидетельствует о мутагенном эффекте загрязнения среды в районах автовокзала г. Екатеринбурга и Металлургического комбината г. Нижнего Тагила.

В заключение следует отметить, что экстраполяция цитогенетических эффектов, имеющих место у лабораторных ( в данном случае, инбредных ) мышей в эксперименте, на природные популяции организмов и на человека затруднена рядом обстоятельств. Некото-

Таблица 1

Средняя частота хромосомных нарушений у мышей BALB/c после инъекции снеговой воды.

Место сбора снеговой пробы		Физиологический раст-вор	Окресности озера Таватуй	Металлургический комбинат г. Нижнего Тагила	Автовокзал г. Екатеринбург
Вариант		I	II	III	IV
Число животных		10	9	10	11
Число проанализированных клеток		1000	900	1010	1185
Средняя частота клеток в %	с хромосомными aberrациями	1,67*	2,22	3,47	3,63
	анеуплоидных	0,56	0,13	-	0,42
	полиплоидных	-	-	0,20	0,17
	анеуплоидных и полиплоидных суммарно	0,56	0,13*	0,20	0,59
	с пробелами	2,20	3,56	2,28	2,78
Среднее число на клетку (x100)	хромосомных aberrаций	1,67	2,67	3,76	3,88
	пробелов	2,60	3,67	2,77	3,04
	разрывов	1,78	3,11	4,06	4,14

Примечание: \* Частота хромосомных aberrаций, анеуплоидных и полиплоидных клеток в варианте I проанализированы для 900 клеток; частота анеуплоидных и полиплоидных клеток в варианте II проанализированы для 800 клеток.

рые из них связаны со строго дозированной силой мутагенного воздействия и искусственным способом введения тестируемых смесей в организм животных. Поэтому для изучения последствий мутагенного загрязнения среды помимо экспериментальной оценки необходим анализ эффектов, наблюдаемых у животных в природных условиях.

### 2.3 ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У СИНАНТРОПНЫХ ДОМОВЫХ МЫШЕЙ, ОБИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ.

Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 2. Применение  $G$  - критерия позволило оценить внутригрупповую однородность всех показателей. По частоте клеток с хромосомными aberrациями, частоте клеток с хромосомными пробелами, суммарной частоте анеуплоидных и полиплоидных клеток все выборки были однородны, за исключением частоты анеуплоидии и полиплоидии у мышей из Пирогово ( $G = 29,80$ ;  $p < 0,01$ ). Поэтому частоты поврежденных клеток у мышей из разных населенных пунктов сравнивались на суммированном для всех животных из каждой группы материале, также с помощью  $G$  - критерия, за исключением частоты анеуплоидных и полиплоидных клеток у зверьков из Пирогово, которая была сравнена с контрольной с помощью  $t$  - критерия.

**ХРОМОСОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ.** Структурные повреждения хромосом были охарактеризованы тремя показателями - частотой клеток с хромосомными aberrациями; числом хромосомных aberrаций на клетку; числом разрывов хромосом на клетку.

Средняя частота клеток с хромосомными aberrациями у мышей из поселка Советского составила 1,25 %. Это значение соответствует оценкам, которые приводятся рядом авторов для лабораторных мышей, не подвергавшихся мутагенным воздействиям. По-видимому, поселок Советский, где источники промышленных загрязнений отсутствуют, а движение автотранспорта ограничено, загрязнен техногенными поллютантами, главным образом, за счет глобальных выпадений.

По частоте клеток с хромосомными aberrациями животные из южной части Екатеринбурга, Октябрьского поселка Каменск - Уральского и Большой Грязнухи не отличаются достоверно от контроля. По всей вероятности, частоты хромосомных aberrаций у домашних мышей из этих местностей можно считать близкими к фоновым для Среднего Урала. В то же время, у мышей из Первоуральска, Новоуткинского, северной части Екатеринбурга, Ленинского поселка Каменск - Уральского и Пирогово наблюдается статистически значимое повышение частоты aberrантных клеток в 2 - 5 раз. Наиболее высокая частота поврежденных клеток обнаружена в северной части Ека-

Таблица 2  
Средняя частота хромосомных нарушений у синантропных мяшей из Советского и населенных пунктов Среднего Урала.

	Советский (контроль)	Первоуральск	Новоуткинский	Екатеринбург		Каменск-Уральский		Пирогово	Большая Грязь
				север	юг	Октябрьский	Ленинский		
Число животных	56	30	20	13	7	9	10	15	10
Число проанализированных клеток	4150	1550	1050	1300	700	450	550	750	500
с хромосомными аберрациями	1,25	3,94	4,38	6,77	1,71	2,00	3,45	2,80	1,60
Средняя частота, %	0,51	0,84	1,81	1,69	0,43	0,67	1,64	1,20	0,60
полиплоидных	0,12	0,26	0,19	0,46	0,43	0,44	0,36	0,53	0,20
анеуплоидных и полиплоидных суммарно	0,63	1,10	2,00	2,15	0,86	1,11	2,00	1,73	0,80
с пробелами	1,81	2,77	8,38	8,38	4,14	4,89	2,91	3,60	2,60
хромосомных аберраций	1,30	4,19	4,57	7,23	2,00	2,44	3,64	2,93	1,60
на клетку (x100)	1,88	3,03	9,14	9,38	4,14	5,56	2,91	3,60	2,60
разрывов хромосом	1,47	5,03	5,05	8,77	3,14	2,67	4,91	3,47	1,80

теринбурга. Эти оценки сопоставимы с уровнем цитогенетического поражения у грызунов в 30 - километровой зоне Чернобыльской АЭС после аварии ( Гилева и др., 1994 ).

**АНЕУПЛОИДИЯ И ПОЛИПЛОИДИЯ.** Поскольку механизмы появления анеуплоидных и полиплоидных клеток во многом ( хотя и не полностью ) сходны, в таблице 2 их частоты были объединены.

Частота анеуплоидных и полиплоидных клеток достоверно превышает контроль ( примерно в 3 раза ) в Новоуткинске, северной части Екатеринбургa, Ленинском поселке Каменск - Уральского и Пирогово. В Первоуральске и Октябрьском поселке Каменск - Уральского этот показатель также повышен, но статистически недостоверно, и для окончательного вывода о существовании или отсутствии анеугенного эффекта среды в этих двух населенных пунктах нужен дополнительный материал.

Повышенная частота анеуплоидных и полиплоидных клеток наблюдается в основном за счет анеуплоидии. Возможно, ее оценка несколько занижена, так как часть гипоплоидных метафазных пластинок, которые не имели округлых очертаний и плотно расположенных хромосом, могла быть не учтена, поскольку их нельзя отличить от клеток, потерявших одну или несколько хромосом в процессе приготовления препаратов. Тем не менее, частоты изменений числа хромосом оказались достаточно высокими, что свидетельствует о наличии в среде анеугенных факторов.

**ПРОБЕЛЫ** представляют собой перерывы в окрашивании хромосом. Их истинная природа до сих пор неясна - неизвестно, являются ли они результатом повреждения генетического материала. Частота клеток с хромосомными пробелами достоверно превышает контрольный уровень у мышей из Новоуткинска, Екатеринбургa, Октябрьского поселка Каменск - Уральского и Пирогово. Наиболее высок этот показатель у мышей из северной части Екатеринбургa и Новоуткинска. Возможно, что часть пробелов все же связана с повреждением хромосом, поэтому в большинстве случаев наблюдается параллелизм частоты пробелов с двумя основными показателями цитогенетического повреждения.

Итак, у домовых мышей в 5 из 8 населенных пунктов Среднего Урала наблюдается повышенный уровень хромосомных повреждений, который свидетельствует о присутствии в среде мутагенных агентов. Судя по характеру хромосомных нарушений, в большинстве населенных пунктов Среднего Урала большой вклад в мутагенный эффект среды вносят химические поллютанты, хотя нельзя исключить влияние ионизирующей радиации.

Далее в этом разделе обсуждаются результаты радиологическо-

го и химического анализа изученных животных с целью выявления возможных факторов, ответственных за увеличение частоты хромосомных нарушений у домовых мышей из населенных пунктов Среднего Урала.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в большинстве исследованных населенных пунктов Среднего Урала в результате химического и радиоактивного загрязнения создавалась опасная генетическая ситуация. Исходя из представлений о параллельные реакции генетического аппарата грызунов и человека на мутагенное воздействие, следует заключить, что население Первоуральска, Новоуткинска, северной части Екатеринбурга, Ленинского поселка Каменск - Уральского и Пирогово подвергается повышенному генетическому риску. Действительно, результаты цитогенетического исследования домовых мышей из Каменск - Уральского хорошо согласуются с результатами медицинского обследования состояния здоровья детей и взрослых, в частности - патологий беременности (Гилева и др., 1994). Таким образом, использование синантропных домовых мышей позволяет выявить мутагенные эффекты техногенного загрязнения среды и прогнозировать генетический риск для населения исследуемых районов.

### ГЛАВА 3. КРАНИОМЕТРИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У СИНАНТРОПНЫХ ДОМОВЫХ МЫШЕЙ НА ТЕРРИТОРИЯХ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ХИМИЧЕСКИМИ И РАДИОАКТИВНЫМИ МУТАГЕНАМИ

#### 3.1 ВЛИЯНИЕ МУТАГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ НА УРОВЕНЬ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ.

Флуктуирующая асимметрия ( ненаправленные отклонения от билатеральной симметрии ) рассматривается многими исследователями как показатель стабильности развития, возрастающий по мере нарушения онтогенетического гомеостаза. Предполагается, что геномные и средовые стрессы, вызывающие подобные нарушения, могут быть идентифицированы в природных популяциях по увеличению флуктуирующей асимметрии морфологических структур. Этот относительно простой метод рекомендован рядом авторов для использования как в эволюционных и популяционно - генетических исследованиях, так и при мониторинге загрязнений среды. Одним из наиболее удобных для биологического мониторинга объектов является синантропная домовая мышь, однако информация о характере связи флуктуирующей асимметрии у этого вида с популяционно - генетическими и средовыми факторами противоречива. В этой связи представляется интересным изучение флуктуирующей асимметрии в популяциях мыши, ко-

торые подвергаются воздействию промышленных загрязнений, обладающих мутагенным эффектом.

Оценки асимметрии 4-х билатерально - симметричных краниологических признаков: ширины теменных костей, длины лобных костей, длины носовых костей и длины резцового отверстия, независимые от абсолютных размеров, получали с помощью деления разницы между сторонами на усредненное для правой и левой стороны значение признака. Их независимость от размера была подтверждена путем вычисления коэффициентов ранговой корреляции Спирмена  $R_s$  между оценками асимметрии и кондилобазальной длиной черепа. В восьми изученных выборках  $R_s$  для разных признаков колебались от - 0,39 до 0,48 и не отличались статистически значимо от 0, хотя выборки были представлены животными разного возраста - от неполовозрелых до взрослых. Можно заключить, что уровни асимметрии исследованных признаков не зависят от возраста мышей. Распределения самцов и самок по значениям асимметрии были сходны для всех признаков (хи - квадрат равен 0 - 2,568;  $df = 1$ ;  $p > 0,05$ ). Средние значения асимметрии также не обнаруживали половых различий ( $t = 0,08 - 1,81$ ;  $df = 13 - 28$ ;  $p > 0,05$ ), за исключением длины лобных костей у мышей из Советского, отловленных в 1992 году ( $t = 2,15$ ;  $df = 24$ ;  $p < 0,05$ ); поэтому данные по животным разного пола и возраста были объединены.

Поскольку средние значения асимметрии для всех групп и признаков отличались от 0 (в 4 из 28 выборок достоверно,  $t = 2,35 - 4,25$ ;  $p < 0,05 - 0,01$ ), была введена поправка на направленную асимметрию: из индивидуальных оценок асимметрии вычитались групповые средние, в результате чего были получены распределения со средним, равным 0. Дисперсии этих распределений являются популяционными оценками флуктуирующей асимметрии. Их сравнивали с помощью F - критерия.

В таблице 3 приведены результаты цитогенетического и морфологического анализа домовых мышей. Во всех среднеуральских выборках, кроме мышей из южной части Екатеринбурга, наблюдалась достоверно повышенная по сравнению с контролем частота хромосомных нарушений (Гилева, Косарева, 1994). В то же время в подавляющем большинстве случаев уровни флуктуирующей асимметрии у контрольных мышей (поселок Советский) выше, чем у животных, подвергавшихся мутагенному воздействию разной интенсивности. Лишь значения флуктуирующей асимметрии ширины теменных костей у зверьков из Первоуральска и Сосновки несколько выше, чем у мышей, отловленных в Советском в 1992 году. Неоднородность внутри-популяционных дисперсий оказалась высоко достоверной для длины

Таблица 3

Дисперсии флуктуирующей асимметрии и частота клеток костного мозга с хромосомными нарушениями у домовых мышей из населенных пунктов с разной степенью загрязненности.

место отлова	п*	средняя частота клеток (в %)		дисперсии флуктуирующей асимметрии ( $\times 10^5$ )			
		с хромосомными aberrациями	анеуплоидных и полиплоидных клеток	ширина теменных костей	длина лобных костей	длина носовых костей	длина резцового отверстия
Советский (1991)	23 (28)	1,71	0,71	6,861	4,287	0,390	0,391
Советский (1992)	29 (28)	1,02	0,58	2,786	2,724	0,245	0,277
Екатеринбург (шг)	20 (7)	1,71	0,86	2,262	0,239	0,110	0,117
Екатеринбург (север)	15 (10)	7,60	1,90	2,318	1,284	0,071	0,101
Первоуральск	29 (30)	3,94	1,10	3,135	1,711	0,100	0,083
Новоуртинск	20 (20)	4,38	2,00	1,139	0,791	0,089	0,172
Рыбниковское	30 (30)	3,40	1,73	1,733	0,795	0,066	0,161
Сосновка	23 (20)	2,67	1,33	3,016	0,995	0,139	0,172
F *** 7,29				2,22 p=0,07	5,80 p<0,001	1,11 p=0,42	2,00 p=0,09
Rs **				-0,347 p=0,36	-0,276 p=0,47	-0,729 p=0,04	-0,602 p=0,11

Примечание:

\* В скобках приведено число мышей, подвергнутых цитогенетическому анализу

\*\* Rs - оценка коэффициента ранговой корреляции Спирмена для частоты клеток с хромосомными aberrациями и дисперсии флуктуирующей асимметрии

\*\*\* Для длины носовых костей DF=7,27

лобных костей. Связь между флуктуирующей асимметрией и частотой индуцированных хромосомных нарушений была оценена еще одним способом - с помощью коэффициента ранговой корреляции  $R_s$ . Она оказалась отрицательной для всех признаков, но достоверной лишь для длины носовых костей.

Таким образом, ни один из изученных краниологических признаков у мышей из загрязненных местностей не обнаруживает роста флуктуирующей асимметрии, который по общепринятым представлениям должен сопутствовать нарушениям стабильности развития под влиянием средового стресса. Для длин лобных и носовых костей обнаружено уменьшение флуктуирующей асимметрии при возрастании стрессующего воздействия. Следует отметить, что сведения о подобной зависимости отсутствуют, по крайней мере, в последних обзорах (Parsons, 1990; 1992). Далее в этом разделе обсуждаются возможные причины уменьшения флуктуирующей асимметрии у мышей с повышенной частотой хромосомных нарушений.

### 3.2 ОСОБЕННОСТИ АЛЛОМЕТРИЧЕСКОГО РОСТА ДОМОВЫХ МЫШЕЙ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ВЛИЯНИЮ МУТАГЕНОВ СРЕДЫ.

В этом разделе предпринята попытка проанализировать темпы роста краниологических признаков в среднеуральских популяциях домовых мышей, находящихся под влиянием техногенных поллютантов и, имеющих повышенную частоту хромосомных нарушений в клетках костного мозга. Для этого был использован метод изучения относительного роста частей тела с помощью аллометрических уравнений.

Характер аллометрического роста перечисленных выше краниологических признаков изучался по отношению к кондилобазальной длине черепа, а аллометрический рост последней - по отношению к длине тела. Важно отметить, что сравниваемые уравнения описывали изменения  $Y$  на одинаковых интервалах значений  $X$ . Пары измерений  $X - Y$  были получены на разновозрастных животных, весом от 9,0 до 23,0 г. Сходные распределения мышей по возрастному - весовым группам во всех выборках ( $\chi^2$ -квадрат равен 10,21;  $df = 14$ ;  $p > 0,05$ ), а также одинаковые распределения самцов и самок по показателям веса тела в каждой выборке ( $\chi^2$ -квадрат равен 0 - 2,27;  $df = 1$ ;  $p > 0,1$ ) позволили объединить данные по животным разного возраста и пола. Аллометрический показатель "а" для всех признаков в каждой выборке значимо отличались от 0 ( $p < 0,05 - 0,00001$ ), за исключением длины верхнего зубного ряда у мышей из северной части Екатеринбургa и наибольшей ширины мозговой части части у мышей из Советского 1992 года ( $p > 0,05$ ).

Как было отмечено, во всех среднеуральских выборках, кроме

мышей из южной части Екатеринбурга, наблюдалась достоверно повышенная по сравнению с контролем частота хромосомных нарушений. В то же время сравнение 95%-ных доверительных интервалов аллометрических показателей краниологических признаков не обнаружило значимых изменений темпов аллометрического роста в условиях мутагенного загрязнения среды. Связь между аллометрическим показателем "а" и частотой клеток с хромосомными aberrациями, а также анеуплоидных и полиплоидных клеток была оценена еще одним способом - с помощью коэффициента ранговой корреляции  $R_s$ . В подавляющем большинстве случаев ( 22 из 24 ) она оказалась недостоверной. Таким образом, в большинстве среднеуральских популяций домовых мышей, подверженных влиянию мутагенов среды, не было обнаружено значимых изменений темпов аллометрического роста краниологических признаков. Далее в этом разделе обсуждаются возможные причины наблюдаемой стабильности темпов аллометрического роста.

#### ВЫВОДЫ

1. Домовая мышь является хорошим индикаторным видом для изучения последствий антропогенных загрязнений, обладающих мутагенным эффектом.

2. Использование лабораторных мышей и снеговой воды позволяет обнаружить мутагенный эффект загрязнения среды в экспериментальных условиях.

3. Для большинства населенных пунктов Среднего Урала обнаружены повышенные по сравнению с контролем частоты клеток с хромосомными aberrациями ( в два - пять раз ) и частоты анеуплоидных и полиплоидных клеток ( в три раза ) в костном мозге синантропных домовых мышей. Эти показатели в ряде случаев оказались сопоставимы с уровнем хромосомных повреждений у грызунов в 30 - километровой зоне Чернобыльской АЭС после аварии.

4. У животных, имеющих достоверно повышенную частоту клеток с хромосомными повреждениями в костном мозге, обнаружено статистически значимое уменьшение уровня флуктуирующей асимметрии некоторых краниологических признаков. Полученные результаты позволяют предположить, что мутагенное загрязнение среды влияет на онтогенетический гомеостаз.

5. В среднеуральских популяциях домовых мышей, обитающих на территориях, загрязненных химическими и радиоактивными мутагенами, не обнаружено достоверное изменение темпов аллометрического роста краниологических признаков. В этой связи использование показателей аллометрического роста в целях мониторинга состояния окружающей среды представляется проблематичным.

Основные публикации по теме диссертации:

1. Гилева Э.А., Большаков В.Н., Косарева Н.Л., Габитова А.Т. Частота хромосомных нарушений у синантропных домашних мышей как показатель генотоксического эффекта загрязнения среды // Докл. АН СССР. - 1992. - Т. 325, № 5. - С. 1058 - 1061.
2. Гилева Э.А., Косарева Н.Л. Уменьшение флуктуирующей асимметрии у домашних мышей на территориях, загрязненных химическими и радиоактивными мутагенами // Экология. 1994. - № 3. - С. 94 - 97.
3. Гилева Э.А., Косарева Н.Л., Бахтиярова М.Ф. Цитогенетические нарушения у домашней мыши, обитающей в районе Таджикского алюминиевого завода // Эколого - генетический мониторинг состояния окружающей среды: Материалы секции. - Караганда, 1990. - С. 36.
4. Гилева Э.А., Косарева Н.Л., Бахтиярова М.Ф. Изменчивость уровня цитогенетических нарушений, индуцированных антропогенными загрязнителями среды, у домашней мыши // Проблемы генетики и селекции на Урале. - Екатеринбург, 1992. - С. 35 - 37.
5. Гилева Э.А., Косарева Н.Л., Лубашевский Н.М., Бахтиярова М.Ф. Изменчивость частоты хромосомных нарушений, индуцированных антропогенными поллютантами, у домашней мыши из Гиссарской долины // Экология. - 1993. - № 1. - С. 62 - 70.
6. Косарева Н.Л. Хромосомные нарушения у домашних мышей, обитающих в здании Уральского педагогического института // Тез. докл. " Экология и здоровье ". - Пенза, 1993. - С. 42 - 43.

