

На правах рукописи

Стяжкина Елена Владимировна

**ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
В КЛЕТКАХ КРОВИ У ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS L.*)
ИЗ ВОДОЁМОВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ РАДИОАКТИВНОГО
ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

03.01.01 – «Радиобиология»

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва-2014

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении науки «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, г. Челябинск

Научный руководитель	доктор биологических наук, профессор Пряхин Евгений Александрович заведующий Экспериментальным отделом ФГБУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России
Официальные оппоненты	доктор биологических наук Левина Сима Гершивна декан естественно-технологического факультета ФГБОУ ВПО Челябинский государственный педагогический университет доктор биологических наук Сынзыныс Борис Иванович профессор кафедры экологии Обнинский Институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ
Ведущая организация	Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург

Защита диссертации состоится «06» ноября 2014 г. в _____ на заседании диссертационного совета Д501.001.65 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12, МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, ауд. 389.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова, Ломоносовский пр. 27, сектор А, к. 812. Отзывы просим присылать Веселовой Т.В. по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра биофизики биологического факультета.

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Веселова Татьяна Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В настоящее время в области регулирования безопасности атомной промышленности во всем мире остаются нерешенными или недостаточно проработанными следующие проблемы: проблема обращения с радиоактивными отходами; проблема ядерного наследия; проблема защиты биоты в зоне произошедшего ранее либо текущего радиоактивного загрязнения окружающей среды. Как показывает опыт радиационных инцидентов, произошедших на ПО «Маяк», Чернобыльской АЭС, аварии на атомных станциях в Японии и др., вопрос радиоактивного загрязнения следует рассматривать не только в свете воздействия на здоровье населения, но и в свете реакции объектов окружающей среды, в том числе и гидробиоценозов. Верхним звеном водных экосистем и наиболее чувствительным к действию широкого спектра токсикантов, а значит и самым показательным звеном в биологическом мониторинге являются рыбы [Van D. Oost et al, 2003]. Здесь отдельного внимания заслуживает проблема влияния радиационного воздействия на генетический гомеостаз у рыб, на эффективность репарации ядерной ДНК, на адаптационные возможности клеток, а также проблема реализации повреждений молекулы ДНК на клеточном, тканевом, организменном и популяционном уровнях. Существует ряд работ, описывающих генотоксическое действие на рыб техногенного загрязнения водоемов: было отмечено влияние тяжелых металлов [Ramsdorf W. et al., 2009; Van Dyk J.C. et al., 2007; Matsumoto S.T. et al., 2004] и продуктов нефтегазовой индустрии [Abessa D.M.S. et al., 2008]. Что касается исследований, посвященных действию ионизирующей радиации, то в качестве эффектов были выделены: нарушения репродуктивной системы [Белова Н.В. и др., 2009; Рябов И.Н., 1992]; изменения сердца, гемодинамики [Аршаница Н.М. и др., 2007]; механизмов ионного гомеостаза [Котелецев С.В. и др., 1999]; процессов кроветворения и иммунологической реактивности [Шлейфер Г.С. и др., 1980]; изменение размерных показателей и пластических признаков [Пешков С.П. и др., 1978; Абросимов Л.М., 1978]; сроков нереста и популяционных характеристик [Гончаренко Н.И. и др., 2004].

Вопрос о генотоксическом действии ионизирующего излучения на рыб менее изучен. В частности, при исследовании рыб из технологических водоемов ПО «Маяк» было отмечено увеличение частоты эритроцитов с микроядрами и высокая частота хромосомных aberrаций в клетках крови [Smagin A.I., 2005; Коломиец И.А. и др., 2010]. Изучение популяций рыб, обитающих в загрязненных в результате аварии на ЧАЭС водоемах, показало повышение уровня хромосомного мутагенеза, частоты микроядер и повышение частоты морфологических аномалий эритроцитов периферической крови [Гудков Д.И. и др., 2005; Помернцева Н.А. и др., 2012; Anbumani S. et al., 2012]. Однако авторы другой работы не отмечали изменений в выходе клеток с хромосомными перестройками у рыб, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации

[Печкуренков В.Л.,1991]. Таким образом, в обзоре литературы имеется недостаточно данных, чтобы корректно определить закономерности генотоксического действия радиационного фактора на рыб из естественных популяций. А работ, посвященных оценке репарации ядерной ДНК клеток рыб, длительное время обитающих в водоемах с разным уровнем радиоактивного загрязнения в доступной литературе не обнаружено.

В Челябинской области существуют уникальные водные экосистемы заселенные сообществами организмов, прошедших множество жизненных циклов в условиях аномальной радиационной и химической нагрузки, – это технологические водоемы ПО «Маяк», эксплуатируемые с 50-х годов XX в.. В проведенных ранее исследованиях по содержанию радионуклидов в различных видах рыб, обитающих в данных водоемах [Коломиец И.А. и др.,2010], было показано, что наибольшую поглощенную дозу имеет плотва. Поэтому оценка благополучия популяции плотвы может стать индикатором состояния всей ихтиофауны водоемов и состояния биоценоза в целом.

Цель работы: Оценить генотоксические эффекты в клетках периферической крови плотвы из промышленных водоемов ПО «Маяк» с разным уровнем радиоактивного загрязнения.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ физиологического состояния по морфологическим показателям плотвы из водоемов В-11, В-10, В-4 Теченского каскада и водоемов сравнения – Шершневого водохранилища и Буферного водоема.
2. Определить уровень повреждений и репарации ядерной ДНК у плотвы из исследуемых водоемов с помощью метода ДНК-комет.
3. Оценить частоту эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы исследуемых водоемов.
4. Оценить частоту эритроцитов с морфологическими аномалиями в периферической крови плотвы исследуемых водоемов.
5. Оценить зависимость проявления генотоксических эффектов у плотвы из исследуемых водоемов от уровня радиационного воздействия.

Научная новизна работы

1. Впервые с помощью методов ДНК-комет, микроядерного теста и оценки морфологических аномалий клеточного ядра проведен анализ уровня повреждения ядерной ДНК клеток периферической крови природных популяций плотвы, в течение ряда поколений, обитающей в водоемах с разным уровнем радиоактивного загрязнения.
2. Определена зависимость частоты эритроцитов периферической крови с морфологическими аномалиями ядра у плотвы от мощности дозы радиационного воздействия.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе получены новые теоретические знания о радиобиологических закономерностях повреждения и репарации ядерной ДНК соматических клеток рыб при хроническом радиационном воздействии. Генотоксическое действие ионизирующего излучения на плотву проявляется в повышении частоты эритроцитов с микроядрами, а также в повышении частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра в периферической крови. Полученные знания вносят вклад в развитие теоретических представлений о реакции клеток рыб на радиационное воздействие.

Полученные данные могут быть использованы для целей нормирования допустимого радиационного воздействия на гидробиоценозы. Результаты исследования внедрены в систему производственного экологического мониторинга специальных промышленных водоемов ПО «Маяк»; используются в учебном процессе на курсах «экотоксикология», «гидробиология» на кафедре биоэкологии Челябинского государственного университета, на курсе «радиоэкология» кафедры радиобиологии Челябинского государственного университета, на курсе «экология» кафедры анатомии, физиологии человека и животных Челябинского государственного педагогического университета. Материалы данной работы были использованы при разработке методических рекомендаций «Оценка генотоксических свойств природных вод методом ДНК-комет с использованием клеток крови рыб» (2012).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Радиационное воздействие на рыб, длительное время обитающих в радиоактивно-загрязненных водоемах приводит к повышению уровня повреждения ядерной ДНК клеток периферической крови плотвы.
2. Радиационное воздействие на рыб, длительное время обитающих в радиоактивно-загрязненных водоемах приводит к повышению интенсивности репарации ядерной ДНК клеток периферической крови плотвы.
3. Метод определения частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра является хорошим инструментом для оценки генотоксического действия среды на рыб и может быть использован в биологическом мониторинге радиоактивно-загрязненных водных экосистем.

Апробация материалов работы. Материалы диссертации были представлены на III Всероссийской научно-практической конференции «Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования» (Нижний Тагил, 2010); V Международной научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения» (Северск-Томск, 2010); Международной конференции EPRBioDose 2010 (Италия, Неаполь, 2010); VI Съезде по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) (Москва, 2010); IV Международной конференции «Хроническое радиационное воздействие:

эффекты малых доз» (Челябинск, 2010); III Международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2010); IV Всероссийской конференции по водной экотоксикологии «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы» (Борок, 2011); IV Международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2012); Ежегодной конференции Health Physics Society 2013 (США, Висконсин, 2013).

Публикации: по материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, в т.ч. обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследований, двух глав, посвященных результатам собственных исследований; заключения, включающего обсуждение полученных результатов; списка литературы, содержащего 246 источника; изложена на 140 страницах машинописного текста и включает 17 таблиц, 25 рисунка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований в настоящей работе стали популяции плотвы (*Rutilus rutilus* L.) из специальных промышленных водоемов-хранилищ жидких низкоактивных радиоактивных отходов ПО «Маяк»: водоемы В-11, В-10 и В-4 Теченского каскада, а также популяции плотвы из водоемов сравнения: Шершневого водохранилища (г.Челябинск) и Буферного водоема (г.Озерск). Для оценки состояния ДНК, уровня репарации и генотоксического действия ионизирующего излучения на плотву использовали эритроциты периферической крови рыб. Эритроциты у рыб характеризуется следующими особенностями: форма клеток овальная, клетки ядерные, содержат гемоглобин. У карповых в 1 мм³ крови содержится 1,5-2,0 млн. эритроцитов. Размер клеток – 10 x 8,5 мкм [Иванова Н.Т.,1983].

Исследованные водоемы. Теченский каскад водоемов (ТКВ) представляет собой совокупность объектов, предназначенный для хранения жидких радиоактивных отходов (ЖРО) и включающих специальные промышленные водоемы В-3, В-4, В-10, В-11, их гидротехнические сооружения, правобережный и левобережный обводные каналы, расположенные в границах санитарно-защитной зоны ФГУН ПО «Маяк» (рисунок 1). С 1965 г. система ТКВ функционирует в её современном виде [Садовников В.И. и др.,2002]. На настоящий момент содержание низкоактивных жидких отходов в специальных промышленных водоемах ТКВ оценивается как свыше 350 млн. м³ суммарной активностью более 15 ПБк [Амундсен И и др.,2000]. В таблице 1 – 4 представлены характеристики исследованных водоемов В-4, В-10 и В-11 и водоемов сравнения.

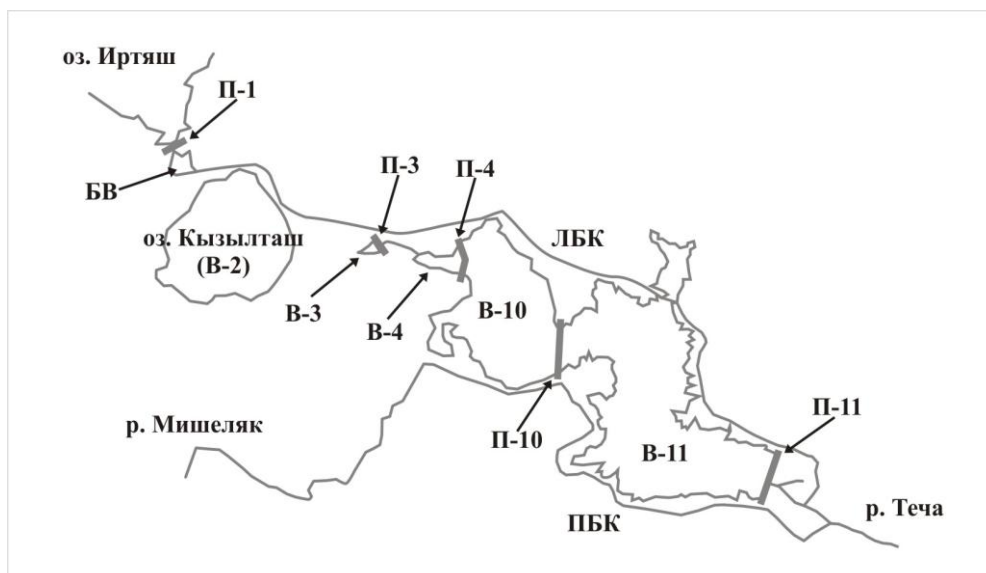


Рисунок 1. Схема района исследования (на рисунке: БВ – Буферный водоем; В-3, В-4, В-10, В-11 – водоемы ТКВ; П-1, П-3, П-4, П-10, П-11 – плотина 1, 3, 4, 10, 11 соответственно; ЛБК, ПБК – левобережный и правобережный обводные каналы)

Таблица 1.

Морфологическая характеристика исследуемых водоемов

Водоем	Год образования	Площадь зеркала	Объем, млн. м ³	Максимальная глубина, м	Средняя глубина, м
ШВ	1965	39,1 (НПУ)	176,5 (НПУ)	14	4,5
БВ	–	2,3	3,5	2,4	1,5
Водоем-11	1965	44,2 (НПУ)	230 (НПУ)	12,3	5,2
Водоем-10	1956	18,6 (НПУ)	82,5 (НПУ)	9,3	4,4
Водоем-4	1951	1,3 (НПУ)	4,0 (НПУ)	3,5	3,1

Примечание: НПУ – нормальный подпорный уровень;

здесь и далее: ШВ – Шершнево-Саратовское водохранилище; БВ – Буферный водоем;

«-» – показатель не определяли

Данные о гидрохимическом составе воды исследуемых водоемов имеются для 20-ти показателей (рН, окисляемость перманганатная, биохимическое потребление кислорода, сухой остаток, минеральный остаток, содержание хлоридов, сульфатов, нитратов, нитритов, фосфатов, аммония, кислорода; присутствие металлов: Са Mg Na, К, Cd, Pb, Cu, Cr) [Осипов Д.И., 2011]. В таблице 2 приведены значения, отличающиеся от допустимых концентраций, установленных для рыбохозяйственных водоемов. В воде Буферного водоема, водоемов В-10 и В-4 отмечается превышение допустимого содержания фосфатов (ПДК_{вр} = 0,2 мг/л). В воде водоемов В-10 и В-11 ТКВ – превышение содержания сульфатов (ПДК_{вр} = 100 мг/л). Кроме того, для водоемов В-10

и В-4 регистрируется высокий показатель перманганатной окисляемости, что указывает на большое содержание в воде органических и минеральных веществ. Для водоема В-4 также следует отметить превышение водородного показателя (рН для водоемов рыбохозяйственного значения = 6,5-8,5) и высокие значения биохимического потребления кислорода что указывает на органическое загрязнение. Для всех водоемов ТКВ и Буферного водоема отмечено превышение ПДКвр тяжелых металлов: Cd (ПДКвр = 0,0005 мг/л), Pb (ПДКвр = 0,01 мг/л) и Cr (ПДКвр = 0,005 мг/л) [Гидрохимические показатели 2007].

Таблица 2.

Химический состав воды исследуемых водоемов, 2009 г. [Осипов Д.И., 2011]

Показатель	ШВ	БВ	В11	В10	В4
рН	7,4	8,4	8,6	8,5	9,1
Сульфаты, мг/л	15,0	29,4	506,0	294,3	47,3
Фосфаты, мг/л	0,07	0,5	0,07	0,64	1,65
Окисл. перм., мг O ₂ /л	6,0	-	6,5	9,4	15,0
БПК ₅ , мг/л	3,3	-	2,5	2,8	27,9
Cd, мг/л	-	0,05	0,05	0,05	0,05
Pb, мг/л	0,004	0,1	0,1	0,1	0,1
Cr, мг/л	0,01	0,05	0,14	0,1	0,06

В таблицах 3 и 4 представлено содержание радионуклидов в воде и донных отложениях исследуемых водоемов. В ряду водоемов ШВ → БВ → В-11 → В-10 → В-4 содержание ¹³⁷Cs в воде возрастает на порядок при переходе от водоема к водоему. Содержание ⁹⁰Sr в ряду водоемов также возрастает, хотя и с меньшим градиентом. Во всех исследуемых водоемах определяется наличие ³H, для которого также характерно планомерное увеличение концентрации в ряду водоемов. Кроме того в воде водоемов ТКВ присутствуют α-излучающие радионуклиды.

Таблица 3.

Содержание радионуклидов в воде, Бк/л (2009 г.) [Духовная Н.И., 2011]

Радионуклиды	Исследуемые водоемы				
	ШВ	БВ	В-11	В-10	В-4
²⁴¹ Am	-	-	$1,6 \times 10^{-1}$	$6,0 \times 10^{-1}$	$2,9 \times 10^0$
⁶⁰ Co	-	-	$1,4 \times 10^{-2}$	$9,4 \times 10^{-2}$	$9,4 \times 10^{-1}$
¹³⁷ Cs	$1,7 \times 10^{-2}$	$5,0 \times 10^{-2}$	3×10^0	$3,5 \times 10^1$	$4,9 \times 10^2$
³ H	$3,7 \times 10^0$	$3,5 \times 10^1$	$7,8 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
²³⁸ Pu	-	$4,0 \times 10^{-2}$	$5,5 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-1}$	$2,5 \times 10^0$
²³⁹ Pu	-		$4,5 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-1}$	$2,1 \times 10^0$
²⁴⁰ Pu					
²⁴¹ Pu	-	-	-	$4,5 \times 10^{-1}$	$5,3 \times 10^0$
⁹⁰ Sr	$1,9 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-1}$	$1,4 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$
²³⁴ U	-	-	-	$5,1 \times 10^{-1}$	$3,7 \times 10^{-1}$
²³⁸ U	-	-	-	$3,6 \times 10^{-1}$	$2,6 \times 10^{-1}$

Для донных отложений исследуемых водоемов, включая водоемы сравнения, характерно значительно более высокие показатели удельной активности радионуклидов, и сохраняется та же тенденция увеличения активности в ряду ШВ → БВ → В-11 → В-10 → В-4 (таблица 4).

Таблица 4.

Содержание радионуклидов в донных отложениях,
Бк/кг сухой массы (2009 г.) [Духовная Н.И., 2011]

Радионуклиды	Исследуемые водоемы				
	ШВ	БВ	В-11	В-10	В-4
^{241}Am	-	-	$8,8 \times 10^3$	$1,1 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$
^{60}Co	-	-	$1,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$
^{137}Cs	$1,7 \times 10^1$	$8,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
^3H	$3,7 \times 10^0$	$3,5 \times 10^1$	$7,8 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
^{238}Pu	-	$3,6 \times 10^0$	$8,7 \times 10^2$	$5,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^5$
^{239}Pu	-		$1,0 \times 10^3$	$4,3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^5$
^{240}Pu	-				
^{241}Pu	-	-	-	$1,7 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
^{90}Sr	$3,3 \times 10^1$	$4,0 \times 10^1$	$4,7 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^6$
^{234}U	-	-	-	$2,6 \times 10^1$	$1,9 \times 10^1$
^{238}U	-	-	-	$1,8 \times 10^1$	$1,3 \times 10^1$

Содержание радионуклидов в плотве из исследуемых водоемов показано в таблице 5 и имеет ту же тенденцию, что и в среде обитания животных.

Таблица 5.

Среднее содержание радионуклидов в плотве,
Бк/кг сырой массы, лето 2009 г. [Тряпицына Г.А., 2011]

Радионуклид	Исследуемые водоемы				
	ШВ	БВ	В-11	В-10	В-4
²⁴¹ Am	-	-	2,9 × 10 ⁻¹	1,1 × 10 ⁰	5,3 × 10 ⁰
⁶⁰ Co	-	-	6,2 × 10 ⁰	4,1 × 10 ¹	4,1 × 10 ²
¹³⁷ Cs	1,5 × 10 ⁻¹	5,2 × 10 ¹	3,2 × 10 ²	1,5 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁵
²³⁸ Pu	-	2,4 × 10 ⁰	3,3 × 10 ⁰	3,1 × 10 ²	5,5 × 10 ²
²³⁹ Pu			2,7 × 10 ⁰	2,4 × 10 ²	4,2 × 10 ²
²⁴⁰ Pu					
²⁴¹ Pu	-	-	-	1,3 × 10 ³	3,2 × 10 ³
⁹⁰ Sr	4,6 × 10 ⁰	1,2 × 10 ²	4,0 × 10 ⁴	2,3 × 10 ⁵	3,9 × 10 ⁵
²³⁴ U	-	-	-	1,5 × 10 ¹	1,1 × 10 ¹
²³⁸ U	-	-	-	1,1 × 10 ¹	7,8 × 10 ⁰

Наибольшие значения концентрации наблюдаются у ^{90}Sr и ^{137}Cs . В таблице 6 представлены расчетные значения мощности дозы для плотвы, полученные с использованием программного комплекса ERICA Assessment Tool 1.0 May 2009 – внутреннего, внешнего облучения и суммарная мощность дозы облучения от каждого

радионуклида и от всех радионуклидов в каждом исследуемом водоеме. Суммарная мощность доз для плотвы (таблица 6) возрастает в ряду от Водоема В-11 (0,8 мГр/сут) к водоему В-4 (19 мГр/сут). Мощность дозы в водоемах сравнения изменяется на 2 порядка. Определяющим значением в формировании суммарной дозы облучения на рыб является значение внутренней дозы.

Таблица 6.

Расчетные значения мощности доз для плотвы [Тряпицына Г.А., 2011]

Водоем	Значение мощности дозы, мГр/сут.		
	внутренней	внешней	общей
ШВ	$7,0 \times 10^{-5}$	$1,6 \times 10^{-5}$	$8,6 \times 10^{-5}$
БВ	$3,8 \times 10^{-3}$	$5,3 \times 10^{-3}$	$9,1 \times 10^{-3}$
В-11	$6,1 \times 10^{-1}$	$1,9 \times 10^{-1}$	$8,0 \times 10^{-1}$
В-10	$4,0 \times 10^0$	$1,1 \times 10^0$	$5,1 \times 10^0$
В-4	$7,1 \times 10^0$	$1,2 \times 10^1$	$1,9 \times 10^1$

Сбор ихтиологического материала. Производился в летний период 2009 г. Отлов рыбы на водоемах осуществляли с использованием ставных сетей с размером ячеек 30 мм, 40 мм и 50 мм. Рыбу взвешивали на весах с точностью до 2 г. Для определения возраста особи отбирали чешую. Далее рыбу фотографировали, после этого из хвостовой вены у 10 особей плотвы из каждого улова на исследуемых водоемах отбирали кровь для оценки уровня повреждения и репарации ядерной ДНК с помощью метода ДНК комет. Для этого 50 мкл крови помещали в эппендорфовские пробирки с гепарином. У 40 живых особей плотвы из улова на каждом из водоемов, а на Буферном водоеме – у 12, отбирали кровь из хвостовой вены и готовили мазки для определения частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра и микроядрами.

Определение морфометрических показателей плотвы. Возраст рыбы определяли по чешуе с помощью стереоскопического микроскопа МБС-9 [Чугунова Н.И., 1959]. При определении массы анализировали результаты взвешивания плотвы. Длину тела рыб определяли как расстояние от вершины рыла до основания средних лучей хвостового плавника [Чугунова Н.И., 1959] на основе анализа фотографий с помощью программного пакета TpsDig2 с точностью до 1 мм. Для определения степени упитанности рыб определяли функцию зависимости массы тела особей от длины тела для всех уловов. При построении графиков использовали пакет Prism 5. Анализ включал определение кормовой базы для исследуемых водоемов, которая складывается из биомассы крупных зоопланктонных организмов: ветвистоусых рачков (Cladocera) и веслоногих рачков (Copepoda), биомассы зообентосных организмов: личинок комаров-хирономид (Chironomidae), малощетинковых червей (Oligochaeta), и 30% биомассы моллюсков (Gastropoda, Bivalvia) на 1 м².

Оценка степени повреждения и репарации ядерной ДНК клеток периферической крови плотвы с помощью метода ДНК-комет. Применяли щелочной вариант метода ДНК-комет [Olive P.L., et al.,1991]. Отобранную из хвостовой вены рыбы кровь разводили физиологическим раствором с гепарином таким образом, чтобы содержание клеток оказалось равным 8×10^3 клеток/см³ и разделили на 2 пробы для приготовления препаратов:

- Для оценки исходного уровня состояния ДНК (сразу после разведения клеток);
- Для оценки репарации ДНК пробу клеток периферической крови подвергали внешнему γ -облучению в исследовательской g-установке ИГУР-1 в дозе 3 Гр с мощностью дозы 73 сГр/мин. Из облученной пробы готовилось 2 препарата: сразу же после облучения, - через 2 ч культивации клеток после облучения при $t=21^{\circ}\text{C}$, в течение этого времени происходил процесс репарации ДНК.

При анализе комет были использованы следующие параметры: длина хвоста кометы (мкм), доля мигрировавшей ДНК (%) и «момент хвоста». Обработку изображения кометы проводили с помощью программы CASP [Konca K. et al.,2003].

Определение частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы: из хвостовой вены рыбы отбирали кровь и делали мазки на чистом предметном стекле. Затем их высушивали и фиксировали в метаноле 3 мин. Окрашивание проводили по Романовскому-Гимза [Предтеченский В.Е. и др.,1938].

Для **определения частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра в периферической крови плотвы** использовали те же препараты, что и для анализа частоты микроядер. Анализировали по 3000 эритроцитов на каждую особь. Учитывали следующие изменения формы ядра эритроцитов периферической крови плотвы: амитоз, пуховидные выпячивания ядра, инвагинация ядра, пикноз, блеббинг ядра [Carrasco K.R. et al.,1990; Иванова Н.Т.,1983].

Статистическая обработка данных. Для каждого показателя определяли среднее арифметическое, среднее квадратичное отклонение, ошибку среднего. С использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Мана-Уитни проводили сравнение анализируемых показателей, при этом достоверными считали отличия при $p \leq 0,05$. Связь между некоторыми показателями оценивали с помощью регрессионного или корреляционного анализа. Оценку влияния факторов на показатели проводили с помощью многофакторного дисперсионного анализа признаков сопряженности с использованием обобщенной линейной модели.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ морфометрических показателей плотвы из исследуемых водоемов включал изучение возрастной структуры популяции (данные представлены в таблице 7), оценку кормовой базы водоемов и размерных показателей рыб. В уловах из всех

водоемов преобладали особи в возрасте 3+ или 4+ года. В уловах плотвы из водоемов ТКВ обнаружены экземпляры 6+ лет и старше (водоем В-4). Данный факт мы связываем с отсутствием промысла на данных водоемах. Другими возможными факторами могут быть: особенности кормовой базы в каждом из водоемов, влияние хищников, различный температурный режим водоемов в течение сезона.

Таблица 7.

Возрастной состав плотвы из исследованных водоемов (лето 2009)

Возраст	Водоемы				
	ШВ	БВ	В-11	В-10	В-4
	Содержание в уловах рыб разного возраста, %				
2+	30,9	-	-	16,4	0,9
3+	40,9	7,7	62,7	38,1	1,7
4+	22,7	92,3	30,7	27,6	64,7
5+	5,5	-	5,3	15,7	18,8
6+	-	-	1,3	1,5	10,3
7+	-	-	-	0,7	0,9
8+	-	-	-	-	-
9+	-	-	-	-	-
10+	-	-	-	-	0,9
11+	-	-	-	-	0,9
12+	-	-	-	-	-
13+	-	-	-	-	0,9

Примечание: «-» – в улове не обнаружено

Для оценки прироста массы животных были проведены измерения длины тела рыб и массы тела рыб и, как интегральный параметр, дающий наиболее верное представление о состоянии популяции рыб, была построена функция зависимости массы тела особей от длины тела, и получены графики функций для каждого из исследованных водоемов (рисунок 2).

Зависимость массы тела особи от длины тела описывается степенной функцией вида $Y = a \times X^b$, где Y – масса тела рыб, X – длина тела рыб, a – свободный член, b – коэффициент, определяющий угол наклона кривой. В таблице 8 приведены коэффициенты для кривых всех водоемов с указанием ошибки и доверительного интервала 95%.

Таблица 8.

Коэффициенты функций зависимости массы тела от длины тела плотвы

Водоем	Коэффициент a	Коэффициент b
ШВ	$0,009 \pm 0,001$ (0,007; 0,012)	$3,26 \pm 0,05$ (3,16; 3,36)
Буферный водоем	$0,078 \pm 0,067$ (0; 0,227)	$2,43 \pm 0,32$ (1,70; 3,15)
Водоем В-11	$0,012 \pm 0,001$ (0,009; 0,015)	$3,13 \pm 0,04$ (3,05; 3,21)
Водоем В-10	$0,012 \pm 0,001$ (0,010; 0,014)	$3,10 \pm 0,03$ (3,09; 3,20)
Водоем В-4	$0,014 \pm 0,002$ (0,011; 0,018)	$3,11 \pm 0,03$ (3,01; 3,21)

Примечание: в скобках указан 95%-ный доверительный интервал

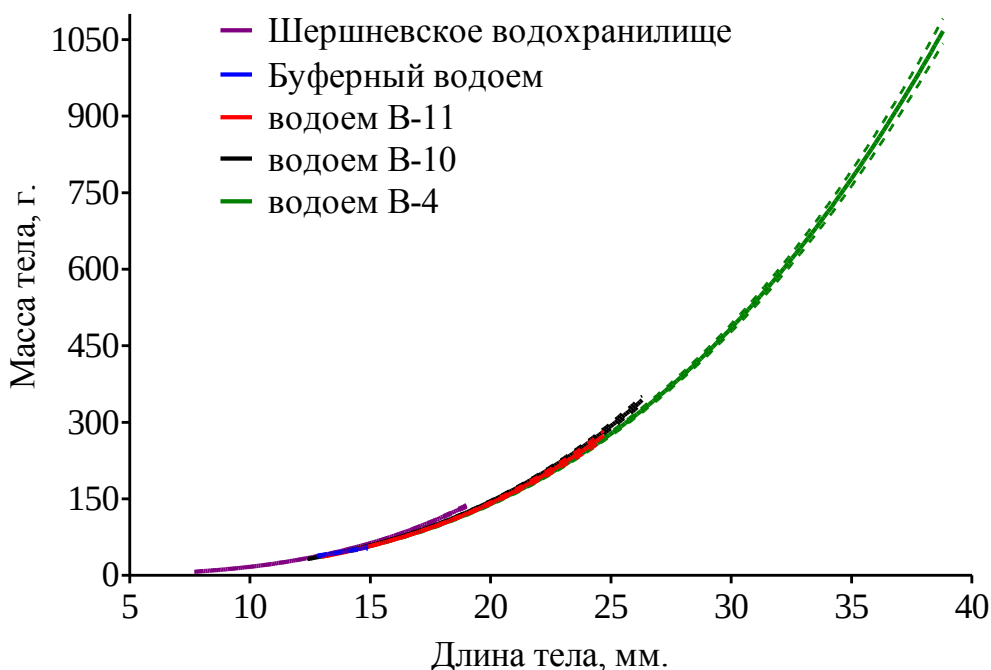


Рисунок 2. Кривые зависимости массы тела от длины тела для плотвы с доверительными интервалами

Функции зависимости массы тела от длины тела рыб в исследуемых водоемах не отличаются, на что указывает отсутствие достоверных отличий в коэффициентах a и b . По исследованным морфометрическим параметрам популяции плотвы из различных водоемов не отличались между собой.

Оценка генотоксических эффектов техногенного загрязнения исследуемых водоемов. Оценка повреждения и репарации ядерной ДНК клеток периферической крови плотвы с помощью метода ДНК-комет. В таблице 9 приведены значения параметров, характеризующих исходный уровень состояния ДНК клеток крови плотвы.

Таблица 9.

Исходный уровень повреждения ядерной ДНК клеток крови плотвы

Водоемы	Параметры		
	Длина хвоста комет (мкм)	Доля мигрировавшей ДНК (%)	«Момент хвоста»
ШВ	$8,8 \pm 0,8$ (7,1; 10,9)	$1,0 \pm 0,2$ (0,6; 1,4)	$0,14 \pm 0,03$ (0,07; 0,23)
В-11	$7,9 \pm 0,4$ (7,0; 8,8) $U = 31; p = 0,40$	$1,2 \pm 0,1$ (0,9; 1,5) $U = 27; p = 0,23$	$0,16 \pm 0,02$ (0,11; 0,21) $U = 32; p = 0,45$
В-10	$11,2 \pm 1,2$ (6,9; 14,5) $U = 27; p = 0,22$	$*2,2 \pm 0,5$ (0,6; 3,4) $U = 18; p = 0,05$	$0,39 \pm 0,09$ (0,08; 0,66) $U = 14; p = 0,02$
В-4	$10,7 \pm 0,8$ (8,7; 13,0) $U = 21; p = 0,09$	$1,9 \pm 0,2$ (1,4; 2,6) $U = 10; p = 0,007$	$0,30 \pm 0,06$ (0,16; 0,46) $U = 15; p = 0,02$

Примечание: подчеркнутый шрифт - статистически достоверные отличия, $p \leq 0,05$; в скобках указаны минимальное и максимальное значения параметра

По параметру длины хвоста кометы не было выявлено достоверных отличий у животных из исследованных водоемов, однако у плотвы из водоемов В-10 и В-4 отмечено достоверное увеличение значений доли мигрировавшей ДНК и «момента хвоста» кометы по сравнению с рыбами из Шершневого водохранилища.

В нашем исследовании был проведен регрессионный анализ зависимости естественного уровня повреждения ДНК от дозы и мощности дозы облучения рыб. Для анализа мы выбрали один из параметров состояния ДНК – «момент хвоста» кометы, поскольку именно этот параметр является интегральным показателем уровня деградации ДНК. Анализ показал слабую, но достоверную зависимость «момента хвоста» от мощности дозы облучения (рисунок 3), которая лучше всего описывалась логарифмической функцией ($F = 6,3$; $R^2 = 0,16$; $p = 0,02$). Линейной зависимости «момента хвоста» кометы от мощности дозы не выявлено ($F = 2,8$; $R^2 = 0,08$; $p = 0,11$).

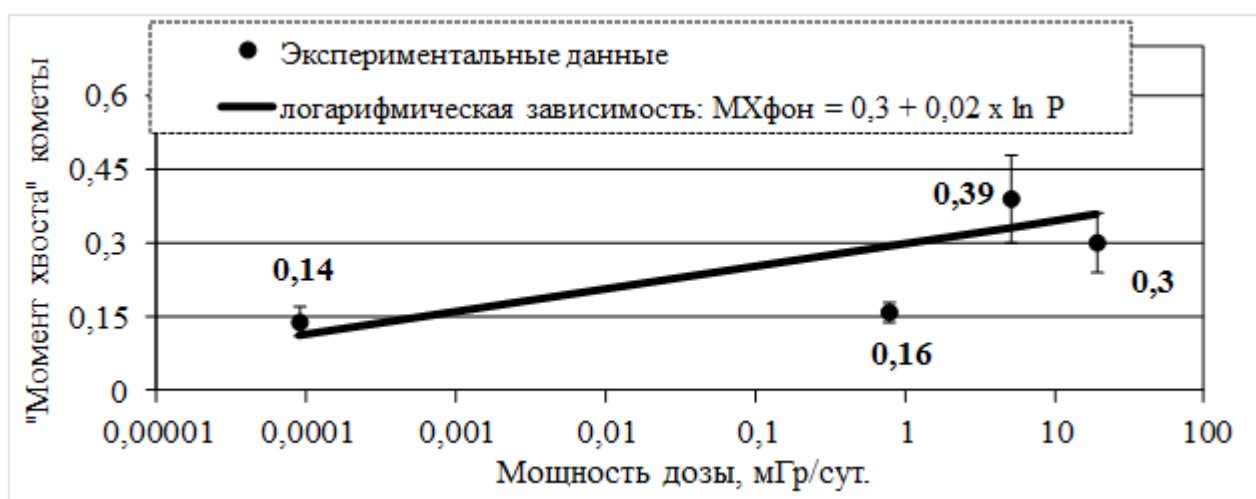


Рисунок 3. Зависимость «момента хвоста» кометы от мощности дозы

Примечание: $MX_{\text{фон}}$ – значения «момента хвоста» кометы при фоновом состоянии ядерной ДНК, P – мощность дозы облучения, мГр/сут.

Была проведена оценка влияния хронического радиационного воздействия на индукцию повреждений дополнительным тестирующим γ -облучением *in vitro* и репарацию молекулы ДНК эритроцитов периферической крови. Индукцию повреждений ядерной ДНК определяли как разность между уровнем деградации ДНК, зарегистрированным сразу после стандартной тест-нагрузки – γ -облучение в дозе 3 Гр – и исходным состоянием ядерной ДНК. Интенсивность репарации определяли как разность значений параметров состояния ДНК сразу и через 2 часа после γ -облучения в дозе 3 Гр. В таблице 10 приведены значения индукции повреждений и репарации ДНК, представленные как разности интегрального параметра состояния ДНК «момента хвоста». Было отмечено, что у плотвы из водоемов В-10 и В-4 ТКВ значения этих параметров выше, чем у рыб из водоема сравнения. У животных из водоемов В-10 и В-4

существенно более высокий уровень индуцируемых тест-нагрузкой повреждений ДНК отмечается на фоне повышенного исходного уровня повреждения ДНК (таблица 9). У плотвы из водоема В-10 дополнительной тест-нагрузкой было индуцировано в 3 раза больше повреждений ядерной ДНК, а у плотвы из водоема В-4 – в 2,3 раза, чем у рыб из водоема сравнения. Вместе с тем у плотвы из водоемов В-10 и В-4 наблюдается повышение активности репарации ядерной ДНК эритроцитов периферической крови (таблица 10). У плотвы из водоема В-10 активность репарации была в 3,7 раза выше, а из водоема В-4 – в 2,4 раза, чем у плотвы из водоема сравнения,

Таблица 10.

Показатели индукции повреждений и репарации ядерной ДНК после γ -облучения в дозе 3 Гр в эритроцитах периферической крови плотвы *in vitro*

Водоемы	Параметры	
	индукция повреждений ядерной ДНК (разность значений «момента хвоста» до и сразу после облучения)	активность репарации ядерной ДНК (разность значений «момента хвоста» сразу и через 2 часа после облучения)
ШВ	$1,5 \pm 0,2$ (0,9; 2,2)	$0,9 \pm 0,2$ (0,5; 1,4)
В-11	$1,6 \pm 0,1$ (0,9; 2,1) $U = 40; p = 0,9$	$1,2 \pm 0,1$ (1,0; 1,4) $U = 35; p = 0,6$
В-10	$4,6 \pm 0,8$ (2,2; 9,6) <u>$U = 10; p = 0,007$</u>	$3,5 \pm 0,7$ (1,9; 5,0) <u>$U = 9; p = 0,005$</u>
В-4	$3,5 \pm 0,6$ (1,6; 6,5) <u>$U = 17; p = 0,04$</u>	$2,2 \pm 0,4$ (1,3; 3,1) <u>$U = 17; p = 0,03$</u>

Примечание: подчеркнутый шрифт - статистически достоверные отличия, $p \leq 0,05$; в скобках указаны минимальное и максимальное значения параметра

Регрессионный анализ не выявил зависимости изменения индукции ($F = 1,3$; $R^2 = 0,04$; $p = 0,25$) и репарации ($F = 0,32$; $R^2 = 0,009$; $p = 0,6$) ядерной ДНК по параметру изменения «момента хвоста» от мощности дозы.

Оценка частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы показала, что у рыб из водоемов ТКВ наблюдается двукратное повышение частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови (таблица 11). Регрессионный анализ показал слабую, но статистически значимую линейную зависимость от мощности дозы ($F = 7,4$; $R^2 = 0,04$; $p = 0,007$). Однако зависимость частоты эритроцитов с микроядрами от мощности дозы лучше описывается логарифмической функцией ($F = 23$; $R^2 = 0,12$; $p < 0,001$) (рисунок 4). Тем не менее, выявленная зависимость определяется разницей показателя у всех животных, подвергшихся хроническому радиационному воздействию и контрольных животных. При анализе зависимости частоты эритроцитов с микроядрами от мощности дозы только для облученных животных не было выявлено достоверной зависимости от уровня радиационного воздействия ($F = 0,13$; $R^2 = 0,001$; p

= 0,72). Это говорит о том, что в диапазоне мощностей доз от 0,8 до 19,3 мГр/сут. частота эритроцитов с микроядрами у плотвы не меняется, а дозозависимые изменения показателя находятся в диапазоне от 0,009 до 0,8 мГр/сут.

Таблица 11.

Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы

Водоем	Мощность дозы облучения, мГр/сут	Частота эритроцитов с микроядрами, ‰	Значения U, p
ШВ	0,00009	$0,25 \pm 0,04$ (0,16; 0,34)	
БВ	0,009	$0,22 \pm 0,05$ (0,12; 0,32)	* U = 232; p = 0,85
Водоем-11	0,8	$0,51 \pm 0,06$ (0,39; 0,63)	* U = 473; p = 0,001 † U = 132; p = 0,01
Водоем-10	5,1	$0,52 \pm 0,06$ (0,40; 0,65)	* U = 457; p = 0,001 † U = 132; p = 0,01
Водоем-4	19,3	$0,53 \pm 0,06$ (0,42; 0,65)	* U = 426; p < 0,001 † U = 106; p = 0,004

Примечание: *подчеркнутый шрифт – статистически достоверные отличия от Шершневого водохранилища, † подчеркнутый шрифт – статистически достоверные отличия от Буферного водоема; в скобках указан 95%-ный доверительный интервал

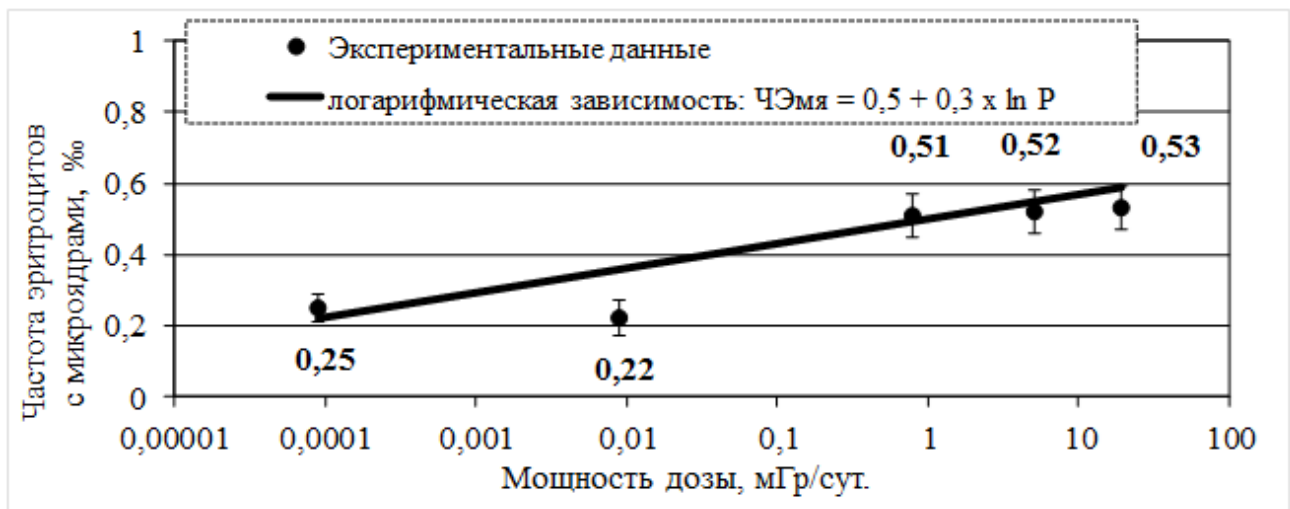


Рисунок 4. Зависимость частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы от мощности дозы.

Примечание: ЧЭ_{мя} – частота эритроцитов с микроядрами; Р – мощность дозы облучения, мГр/сут.

Оценка частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра в периферической крови плотвы. Возникновение морфологических аномалий эритроцитов озерных и прудовых рыб указывает на токсикозы различной этиологии [Ayllon F. et al., 2000], и данный тест рекомендовано применять в качестве маркера генотоксического действия компонентов среды [Cavas T. et al., 2005; Toni P. et al., 2009]. В таблице 12 представлены полученные в нашем исследовании результаты.

Таблица 12.

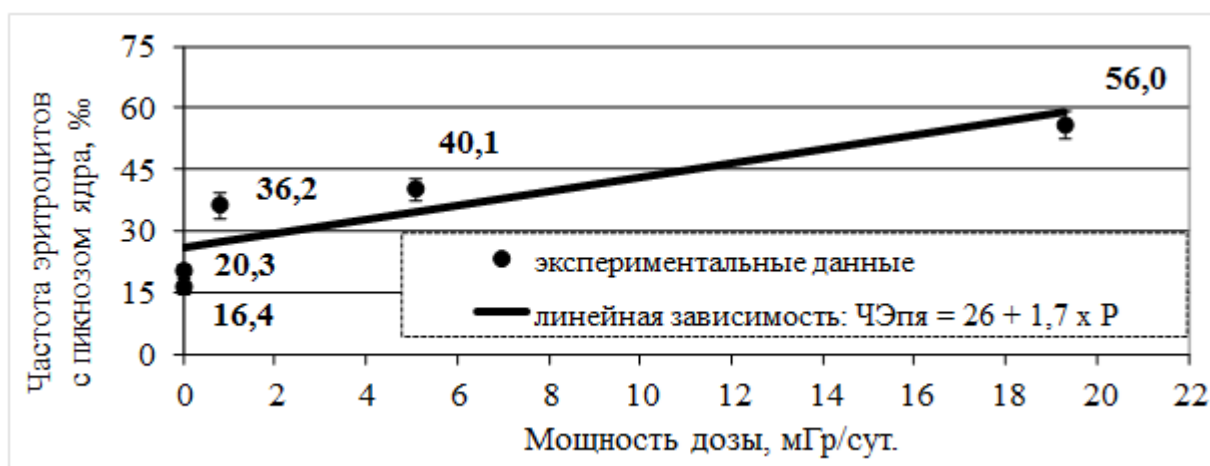
Частота встречаемости эритроцитов с морфологическими аномалиями в периферической крови плотвы, ‰

Водо- ем	Морфологическая аномалия					
	Амитоз	Пикноз	Инвагинация ядра	Пуфовидные выпячивания ядра	Блеббинг ядра	Все аномалии ядра
ШВ	1,35 ± 0,32 (0,68; 2,02)	16,4 ± 1,7 (12,7; 19,9)	0,85 ± 0,32 (0,18; 1,52)	0,10 ± 0,10 (0; 0,31)	21,0 ± 3,9 (12,7; 29,2)	39,7 ± 5,3 (28,4; 50,8)
БВ	1,25 ± 0,33 (0,53; 1,97) * U = 120; p = 0,97	20,3 ± 3,0 (13,7; 26,8) * U = 95; p = 0,32	0,92 ± 0,42 (0; 1,83) * U = 112; p = 0,71	0,25 ± 0,13 (0; 0,54) * U = 98; p = 0,13	20,9 ± 4,1 (11,8; 30,0) * U = 112; p = 0,74	43,6 ± 4,7 (33,2; 53,9) * U = 84; p = 0,16
В-11	1,75 ± 0,73 (0,22; 3,28) * U = 186; p = 0,74 † U = 109; p = 0,64	36,2 ± 5,5 (24,6; 47,7) * U = 136; p < 0,001 † U = 65; p = 0,03	1,10 ± 0,25 (0,58; 1,62) * U = 156; p = 0,2 † U = 99; p = 0,4	0,85 ± 0,25 (0,32; 1,38) * U = 112; p = 0,002 † U = 84; p = 0,11	36,0 ± 4,0 (27,7; 44,2) * U = 93; p = 0,003 † U = 60; p = 0,02	75,8 ± 7,3 (60,5; 91,1) * U = 61; p < 0,001 † U = 46; p = 0,004
В-10	1,65 ± 0,47 (0,67; 2,63) * U = 196; p = 0,9 † U = 119; p = 0,95	40,1 ± 7,2 (25,1; 55,1) * U = 100; p = 0,007 † U = 77; p = 0,09	1,35 ± 0,32 (0,68; 2,02) * U = 149; p = 0,14 † U = 95; p = 0,29	0,75 ± 0,20 (0,32; 1,18) * U = 113; p = 0,003 † U = 84; p = 0,11	39,1 ± 5,9 (26,7; 51,4) * U = 97; p = 0,005 † U = 61; p = 0,02	83 ± 11 (59; 107) * U = 92; p = 0,003 † U = 61; p = 0,02
В-4	2,95 ± 0,79 (1,29; 4,61) * U = 162; p = 0,28 † U = 98; p = 0,37	56,0 ± 6,5 (42,3; 69,6) * U = 17; p < 0,001 † U = 22; p < 0,001	2,05 ± 0,54 (0,93; 3,17) * U = 125; p = 0,03 † U = 80; p = 0,1	0,25 ± 0,12 (0; 0,51) * U = 172; p = 0,18 † U = 116; p = 0,81	60,9 ± 8,8 (42,5; 79,2) * U = 52; p < 0,001 † U = 35; p = 0,001	122 ± 13 (95; 149) * U = 22; p < 0,001 † U = 11; p < 0,001

Примечание: *подчеркнутый шрифт – статистически достоверные отличия ($p \leq 0,05$) от водоема сравнения – Шершневого водохранилища, †подчеркнутый шрифт – статистически достоверные отличия ($p \leq 0,05$) от водоема сравнения – Буферного водоема; в скобках указан 95%-ный доверительный интервал

Достоверные изменения в частоте встречаемости эритроцитов с пикнозом, пуфовидными выпячиваниями ядра и блеббингом ядра были отмечены для плотвы из водоемов В-11 и В-10; а для плотвы из водоема В-4 – с пикнозом, инвагинцией ядра и блеббингом ядра.

Был проведен регрессионный анализ зависимости от мощности дозы каждой из рассмотренных аномалий. Наиболее значимыми оказались линейные функции зависимости частоты эритроцитов с пикнозом ядра ($F = 24$; $R^2 = 0,21$; $p < 0,001$) и блеббингом ядра ($F = 26$; $R^2 = 0,23$; $p < 0,001$) (рисунок 5).



а)



б)

Рисунок 5. Зависимость частоты эритроцитов с пикнозом ядра (а) и блеббингом ядра (б) в периферической крови плотвы от мощности дозы

Примечание: $ЧЭ_{п\text{я}}$ – частота эритроцитов с пикнозом ядра, $ЧЭ_{б\text{я}}$ – частота эритроцитов с блеббингом ядра, %, P – мощность дозы облучения, мГр/сут.

Следует обратить внимание, что достоверная линейная зависимость частоты эритроцитов с блеббингом ядра и пикнозом ядра от уровня радиационного воздействия прослеживается и при проведении регрессионного анализа только с использованием данных животных, обитающих в радиоактивно-загрязненных водоемах (для блеббинга:

$F = 8,7$; $R^2 = 0,13$; $p = 0,05$; для пикноза: $F = 5,4$; $R^2 = 0,09$; $p = 0,02$), что еще раз убеждает о наличии зависимости этих показателей от уровня радиационного воздействия.

Как представлено таблице 12, у плотвы из водоемов В-11, В-10 и В-4 ТКВ частота встречаемости эритроцитов со всеми аномалиями ядра статистически значимо выше относительно контрольных значений. Регрессионный анализ зависимости этого параметров от мощности дозы показал, что оно описывается линейной ($F = 38$; $R^2 = 0,3$; $p < 0,001$) функцией. На рисунке 6 изображены кривая зависимости частоты эритроцитов со всеми исследованными морфологическими аномалиями ядра, как обобщенного показателя, от мощности дозы.



Рисунок 6. Зависимость частоты эритроцитов со всеми морфологическими аномалиями ядра в периферической крови плотвы от мощности дозы

Примечание: СЧЭ_{АЯ} – частота эритроцитов со всеми морфологическими аномалиями ядра, %, P – мощность дозы облучения, мГр/сут.

Многофакторный анализ признаков сопряженности с использованием обобщенной линейной модели, где в качестве зависимой переменной была выбрана суммарная частота эритроцитов с морфологическими аномалиями ядра, а в качестве признаков – радиационный фактор, химические показатели воды водоемов и морфометрические параметры рыб, выявил, что на изменение суммарной частоты эритроцитов со всеми исследованными морфологическими аномалиями ядра наибольшее влияние оказывает мощность дозы облучения (статистика Вальда = 51; $p < 0,001$) и концентрация сульфатов в воде водоема (статистика Вальда = 9; $p = 0,003$). Полученная модель ($\chi^2 = 41$; $p < 0,001$) имеет следующий вид:

$$\text{СЧЭ}_{\text{АЯ}} = 39 + 4 \times P + 0,1 \times S,$$

где СЧЭ_{АЯ} – суммарная частота эритроцитов с аномалиями ядра, %; P – мощность дозы, мГр/сут.; S – концентрация сульфатов в воде водоема, мг/л.

Таким образом, проведенный анализ показал, что в периферической крови у плотвы из водоемов В-11, В-10 и В-4 ТКВ наблюдается повышение частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями, и согласно показателю критерия Вальда определяющим фактором в этом играет мощность дозы облучения.

Одной из идей нашего исследования было выявить оптимальный инструмент для оценки генотоксического эффекта на ихтиофауну в радиоактивно-загрязненных водных экосистемах. Для этого был проведен регрессионный анализ зависимости частоты эритроцитов с микроядрами, частоты эритроцитов с каждой из морфологических аномалий ядра и частоты эритроцитов со всеми аномалиями ядра от мощности дозы в диапазоне от 0,8 до 19,3 мГр/сут. Анализ показал, что в данном диапазоне доз, который соответствует уровням радиационного воздействия на рыб в водоемах В-11, В-10, В-4 Теченского каскада, отсутствует линейная дозовая зависимость частоты эритроцитов с микроядрами, а среди всех морфологических аномалий эритроцитов наиболее значимые линейные зависимости характерны для двух морфологических аномалий ядра: пикноз ядра и блеббинг ядра. При этом оказалось, что суммарная частоты данных морфологических аномалий ядра описывается линейной функцией ($F = 11$; $R^2 = 0,16$; $p = 0,002$), которая является в той же степени статистически значимой, что и зависимость суммарной частоты всех морфологических аномалий ядра ($F = 11$; $R^2 = 0,16$; $p = 0,002$) в диапазоне 0,8 - 19,3 мГр/сут. Для суммарной частоты эритроцитов с пикнозом и блеббингом ядра был построен график функций зависимости от мощности дозы воздействия (рисунок 7).

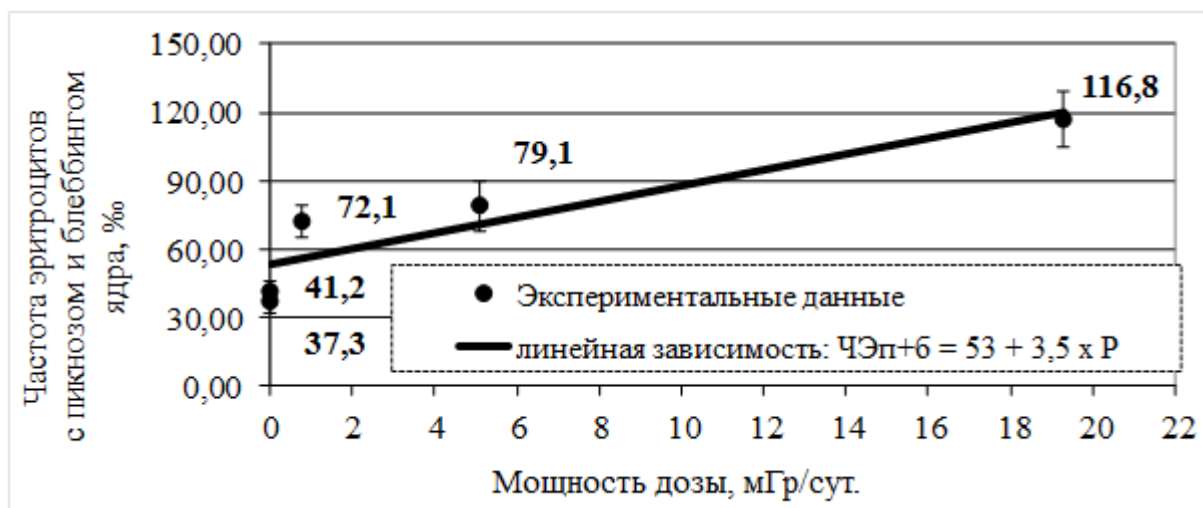


Рисунок 7. Зависимость частоты эритроцитов с пикнозом + блеббингом ядра в периферической крови плотвы от мощности дозы

Примечание: ЧЭп+б – частота эритроцитов с пикнозом+блеббингом ядра, %, Р – мощность дозы облучения, мГр/сут.

Таким образом, для мониторинга генотоксических эффектов на рыб, обитающих в радиоактивно-загрязненных водоемах, целесообразнее использовать метод определения частоты морфологических аномалий ядер эритроцитов в периферической крови по сравнению с микроядерным тестом, а среди всех морфологических аномалий наиболее показательным является определение суммарной частоты эритроцитов с пикнозом и блеббингом ядра.

Результаты нашего исследования показали, что пребывание плотвы в условиях хронического действия радиационного и химического факторов приводит к увеличению генотоксических эффектов в клетках крови животных, однако наряду с возрастанием негативных событий происходит и активация систем клеточной защиты: повышение активности репарации ядерной ДНК, увеличение частоты эритроцитов с пикнозом ядра, т.е. запуск одного из механизмов поддержания гомеостаза – апоптоза, из чего можно заключить, что рыбы, обитающие в радиоактивно-загрязненных водоемах, пребывают в состоянии адаптации, на что указывает отсутствие статистически значимых зависимостей исходного уровня повреждения ДНК и частоты эритроцитов с микроядрами от мощности дозы облучения у животных из водоемов ТКВ, а на организменном уровне – в отсутствии изменений в физиологическом состоянии животных по их морфологическим показателям.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое радиационное воздействие на плотву не приводит к достоверному изменению соотношения массы и длины у рыб при воздействии с мощностью дозы до 19,3 мГр/сут.
2. Хроническое радиационное воздействие приводит к повышению уровня повреждений ядерной ДНК клеток периферической крови у плотвы, регистрируемых с помощью метода ДНК комет при воздействии с мощностью дозы 5,1 мГр/сут. и выше.
3. Хроническое радиационное воздействие приводит к повышению скорости репарации ядерной ДНК в клетках периферической крови у плотвы при воздействии с мощностью дозы 5,1 мГр/сут. и выше.
4. Хроническое радиационное воздействие приводит к двукратному повышению частоты эритроцитов периферической крови с микроядрами у плотвы при воздействии с уровнем 0,8 мГр/сут., которое не зависит от уровня радиационного воздействия в диапазоне от 0,8 до 19,3 мГр/сут.
5. Радиационное воздействие на плотву, длительное время обитающую в радиоактивно-загрязненных водоемах, приводит к дозозависимому повышению частоты эритроцитов с морфологическими аномалиями в периферической крови в диапазоне от 0,009 мГр/сут до 19,3 мГр/сут.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Дерябина Л.В., Андреев С.С., Духовная Н.И., Осипов Д.И., Обвинцева Н.А., **Стяжкина Е.В.**, Костюченко В.А., Попова И.Я., Аклеев А.В., Стукалов П.М., Иванов И.А., Мокров Ю.Г. Современное состояние экосистем водоёмов В-11, В-10, В-4, В-17 и В-9 ПО «Маяк» // Вопросы радиационной безопасности. – 2011. – № 2. – С. 5 – 23.
2. Осипов Д.И., Тряпицына Г.А., **Стяжкина Е.В.**, Пряхин Е.А., Стукалов П.М. Влияние радиоактивного загрязнения на зоопланктон пресных водоёмов // Вопросы радиационной безопасности. – 2011. – № 2. – С. 37 – 49.
3. **Стяжкина Е.В.**, Обвинцева Н.А., Шапошникова И.А., Тряпицына Г.А., Пряхин Е.А., Стукалов П.М. Оценка уровня повреждения и репарации ядерной ДНК у плотвы (*Rutilus rutilus* L.) водоёма В-10 Теченского каскада // Вопросы радиационной безопасности. – 2011. – № 2. – С. 67 – 74.
4. **Стяжкина Е.В.**, Обвинцева Н.А., Шапошникова И.А., Тряпицына Г.А., Стукалов П.М., Пряхин Е.А. «Оценка уровня повреждения и репарации ядерной ДНК у плотвы (*Rutilus rutilus* L.) из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения» // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2012. – Т. 52. - № 2. – С. 198-206.
5. Е.А. Пряхин, Г.А. Тряпицына, **Е.В. Стяжкина**, И.А. Шапошникова, Д.И. Осипов, А.В. Аклеев Оценка уровня патологии эритроцитов в периферической крови у плотвы (*Rutilus rutilus* L.) из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2012. – Т. 52. – № 6. – С. 616–624.

Другие публикации

6. Аклеев А.В., Веремеева Г.А., Худякова О.И., Варфоломеева Т.А., Овчарова Е.А., **Стяжкина Е.В.** Влияние хронического облучения на структурно-функциональное состояние клеток периферической крови человека // Бюллетень Сибирской медицины. – 2005. - № 2. – С. 9-11.
7. Аклеев А.В., Веремеева Г.А., **Стяжкина Е.В.** Радиационно-индуцированная апоптозная гибель лимфоцитов у людей, подвергшихся хроническому облучению. // Безопасность биосферы: тезисов докладов Всерос. молодежного науч. симпоз., 4.-5 мая 2005, Екатеринбург – Екатеринбург, 2005 – С. 46.
8. Коломиец И.А., **Стяжкина Е.В.**, Тряпицына Г.А., Стукалов П.М., Пряхин Е.А. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови у плотвы из водоема В-11 Теченского каскада водоемов ПО «Маяк» // Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения: Материалы V междун. науч.-практ. конф., посвящ. 10-летию создания Северского биофизич. научн. центра ФМБА России, 13

- 14 апреля, 2010., Северск – Томск / отв. ред. Р.М. Тахауов. – Томск: ООО «Графика», 2010. – С. 128 – 129.
9. И.А. Коломиец, **Е.В. Стяжкина**, Г.А. Тряпицына Оценка частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови у плотвы из водоема В-10 Теченского каскада водоемов. // Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования: материалы III Всерос. науч.-практ. конф. 1 – 5 марта 2010, Нижний Тагил, Ч. 1 / отв. ред. Т.В. Жуйкова, О.В. Семенова, О.А. Тимохина; Нижнетагил. гос. соц.-пед. акад. – Нижний Тагил, 2010. – С. 96 – 98
 10. **Е.В. Стяжкина**, Г.А. Тряпицына, Е.А. Пряхин Оценка уровня повреждения и репарации ядерной ДНК у плотвы из водоема В-10 Теченского каскада водоемов // Хроническое радиационное воздействие: эффекты малых доз: Тезисы докладов IV междун. конф., 9 – 11 ноября 2010, Челябинск / отв. ред. А.В. Акеев. – Челябинск: «Челябинская государственная медицинская академия», 2010. – С. 134 – 135.
 11. I.A. Kolomiets, **E.V. Styazhkina**, G.A. Tryapitsina, E.A. Pryakhin: Frequency of the erythrocytes with micronuclei in peripheral blood at roach from radioactive wastes storage // EPRBioDose 2010 International Conference. Abstract book. Mandelieu-La Napoule (France), October 10-14, 2010. Rome: Pioda Imaging. – 2010. – P. 179.
 12. Е.А. Пряхин, Г.А. Тряпицына, Л.В. Дерябина, П.М. Стукалов, С.С. Андреев, Н.И. Духовная, Д.И. Осипов, И.А. Шапошникова, С.П. Тарасова, Н.А. Обвинцева, **Е.В. Стяжкина**, В.А. Костюченко, А.В. Акеев. Гидробиологические исследования специальных промышленных водоемов ПО «Маяк» // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы III Международной научно-практической конференции, Челябинск: изд-во Челяб. гос. пед. ун-та, 2010. – С. 16.
 13. **Стяжкина Е.В.** «Оценка репарации ДНК в клетках периферической крови рыб из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения» // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: IV Всерос. конф. по водной экотоксикологии, Борок 27 сентября - 2 октября 2011
 14. Шапошникова И.А., **Стяжкина Е.В.**, Тряпицына Г.А. Использование цитологических маркеров для оценки техногенного воздействия на рыб // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы IV Международной науч.-практич. конф. 8 - 9 октября 2012 г., Челябинск. – Челябинск: Изд-во Челяб. гос. пед. ун-та, 2012. – С. 41 – 43.
 15. Shaposhnikova, I.A., Tryapitsyna, G.A., **Styazhkina, E.V.**, Osipov, D.I., Pryakhin, E.A. The Level of Pathologic Erythrocytes in the Peripheral Blood of Roach (*Rutilus rutilus* L.) Inhabiting Reservoirs with Different Levels of Radioactive Contamination // Health Physics Society 58th Annual Meeting. Wisconsin 7 - 11 July 2013. – 2013. – P. 76-77