

УДК 575.174.015.3:599.723

Источники противоречий в оценке популяционно-генетических последствий черновыльской аварии

В. И. Глазко*, Т. Т. Глазко

Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Москва, Тимирязевская, 49

*E-mail: vglazko@yahoo.com

Поступила в редакцию 14.08.2012

РЕФЕРАТ В обзоре рассматриваются собственные и опубликованные данные о популяционно-генетических последствиях обитания разных видов млекопитающих в условиях высокого уровня ионизирующего облучения в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Представлены данные, свидетельствующие о том, что такие условия способствуют предпочтительному воспроизводству гетерозигот в полилокусных спектрах молекулярно-генетических маркеров, а также животных с относительно повышенной стабильностью хромосомного аппарата. Обсуждается перспективность использования репродуктивного «успеха» носителей этих характеристик в качестве интегрального показателя селективного действия факторов экологического стресса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА ионизирующее излучение, молекулярно-генетические маркеры, репродуктивный «успех», цитогенетические аномалии, экологический стресс.

ВВЕДЕНИЕ

Прошло 26 лет со дня наибольшей техногенной катастрофы XX века – аварии на Чернобыльской АЭС, которая высветила множество глобальных проблем индустриального и постиндустриального общества. С точки зрения системно-эволюционного подхода, процесс антропо- и социогенеза есть результат реализации уникальной, свойственной только *Homo sapiens*, стратегии выживания, стержневые элементы которой – одновременное сочетание биологической, социокультурной и технологической адаптации. Чернобыль показал несовместимость этих элементов. Наиболее мобильный из них, технологический, определяет общее направление истории человечества. Одомашнивание растений и животных, как условие перехода к оседлости, стало первым этапом формирования аграрной цивилизации и соответственно создания новых технологий, позволяющих приспособиться к меняющимся факторам окружающей среды. Культура, в том числе и культура производства, должна играть основную роль в координации всех трех составляющих адаптивной стратегии. Чернобыльская авария и отношение к ее последствиям, как и к последствиям многочисленных техногенных аварий и катастроф XX века, свидетельствуют о том, что культура развивается существенно медленнее, чем технологический прогресс и его биосферные по-

следствия. Наглядным примером тому служит сохраняющаяся до сих пор дискуссионность в оценках последствий для здоровья населения не только чернобыльской аварии, но и взрывов ядерных бомб в Хиросиме и Нагасаки.

До настоящего времени последствия экологических изменений для живых объектов только констатируются – подсчитываются исчезающие виды, оцениваются снижение их репродуктивной функции и изменение видовых сообществ. Противоречивость оценок последствий аварии Чернобыльской АЭС для биоты в очередной раз актуализирует еще более глобальную проблему – отсутствие достаточно надежных непротиворечивых оценок биобезопасности регионов проживания человека. Острая необходимость развития новых подходов к оценке биобезопасности обусловлена в основном двумя причинами: резким ускорением распространения загрязнителей и усложнением их состава. Традиционная экспертиза токсических агентов в воздухе, грунте и воде не включает постоянно возникающие новые загрязнители, а также не может учитывать их комбинационные эффекты, и, таким образом, нуждается в дополнительном анализе комплекса живых организмов – мишени действия токсических агентов. Очевидно, что одной из ключевых проблем является подбор индикаторных видов, популяционно-генетические изменения которых мо-

гут использоваться в качестве объективного показателя биобезопасности исследуемого региона.

Однако генетические последствия генотоксических воздействий чаще всего рассматривают только с точки зрения опасности появления мутантных организмов – носителей конститутивных мутаций, представленных во всех клетках многоклеточного организма. Частота их появления, особенно носителей таких масштабных генетических дефектов, как цитогенетические аномалии, может служить косвенным показателем той «чувствительной» к воздействию части генофонда, которая «уходит» из воспроизводства популяции, поскольку, как правило, у высших организмов носители конститутивных мутаций менее плодовиты, чем нормальные.

Основными причинами, затрудняющими объективную оценку повреждающего действия ионизирующего излучения, являются: гетерогенность по радиочувствительности рассматриваемых групп организмов на уровне видов, популяций, отдельных особей, различных тканей и органов; изменчивость радиочувствительности клеток одной и той же особи в онтогенезе и под влиянием факторов окружающей среды, в частности, активирующих или подавляющих активность разных звеньев антиоксидантной системы; сложность мутационных спектров и их вклада в соматические патологии, их связь с нарушением репродуктивной функции организмов.

Традиционно для оценки генотоксичности какого-либо воздействия или уровня загрязненности региона используют подсчет генных мутаций, хромосомных aberrаций и микроядерный тест у представителей различных индикаторных видов. Так, например, цитогенетические характеристики костного мозга мелких млекопитающих широко применяются в качестве биотеста для оценки экологической ситуации в различных регионах [1–5]. Однако накопленные данные наглядно свидетельствуют о широкой индивидуальной вариабельности как спонтанных частот встречаемости цитогенетических аномалий, так и их изменений в ответ на генотоксические воздействия.

Стабильность хромосомного аппарата – полигенный признак, контролируемый большим количеством факторов и генов, которые нельзя просто свести к ферментам репарации ДНК [6]. Так, анеуплоидия тесно связана с мутациями генов, контролирующих синхронность деления центросом со стадиями митоза. Нарушение такой синхронности приводит к многополюсным митозам с последующими ошибками расхождения хромосом по дочерним клеткам [7–10]. Хроническое или преходящее нарушение функции теломер, мутации или дисфункции генов белков теломер приводят к их слиянию, что служит источником глубокой геномной нестабильности [11, 12].

На уровне нуклеотидных последовательностей существует множество разных источников и механизмов геномной нестабильности, единственная общая черта которых – образование двухцепочечных разрывов ДНК (DSB) [13]. Следует отметить, что частоты мутаций в различных участках генома существенно зависят от целого ряда собственно геномных параметров (нуклеотидного контекста, времени репликации, плотности нуклеосом, модификаций гистонов, упаковки хроматина и ряда других) [14]. Именно это и затрудняет обычно оценку генотоксических эффектов в генетически гетерогенных популяциях, к которым относятся и популяции человека.

Проблема осложняется еще и тем, что «выход» мутаций в соматических клетках, количество мутантов в потомстве – это конечный этап многостадийного процесса. Наблюдаемые эффекты любого генотоксического воздействия будут зависеть от нескольких параметров, включая: 1) индивидуальную чувствительность данного организма к исследуемому воздействию (в частности, активность ферментов биотрансформации ксенобиотиков, систем антиоксидантной защиты); 2) генотипические характеристики активности ферментов репарации индуцируемых дефектов; 3) ферменты детоксикации токсических агентов, поступающих в клетки и образующихся в процессе внутриклеточного метаболизма; 4) скорость удаления поврежденных клеток.

По-видимому, именно полигенность перечисленных функций и приводит к широкому размаху индивидуальной изменчивости у групп млекопитающих в ответ на генотоксические воздействия одной и той же интенсивности.

Следует подчеркнуть, что неразвитость представлений о множественности мишеней повреждающего действия ионизирующего облучения в цитоплазме и ядре, в разных участках ДНК и о не менее сложных путях реализации таких повреждений в виде мутаций, а также о защитных системах многоклеточного организма, препятствующих накоплению мутантных клеток, приводит к тому, что прогнозы повреждающего действия, в частности для человека, существенно отличаются от накопленных эмпирических оценок.

Учитывая отсутствие информации о молекулярных каскадах событий, связанных с мутагенезом, очевидна проблематичность прогноза последствий воздействия ионизирующего облучения, если такой прогноз выполняется на основании оценок реализованных мутационных событий. Как правило, даже не обсуждаются специфические особенности мутагенеза разных элементов геномов, механизмы, скорость возникновения, биологические последствия которых существенно отличаются друг от друга.

В то же время, не изменив представлений о путях действия ионизирующего излучения на генетический материал биологических объектов, невозможно ожидать исчезновения противоречий между экспериментальными данными и прогнозами, основанными на слишком упрощенных представлениях и моделях мутагенного действия ионизирующего излучения на живые объекты.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИШЕНЕЙ У ЖИВЫХ ОБЪЕКТОВ. МОЛЕКУЛЯРНОЕ, КЛЕТОЧНОЕ, ОРГАНОЕ, ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ

Одна из причин существующих затруднений состоит в том, что мутационные события с достаточно высокой частотой возникают и из-за эндогенных событий. Так, в клетках человека частота спонтанных мутаций в структурных генах составляет 5×10^{-11} в расчете на одно основание за одно клеточное деление [15]. В данном случае речь идет о частоте нуклеотидных замен в генах, приводящих к аминокислотным заменам в их белковых продуктах. У высших млекопитающих диплоидный геном содержит примерно 6×10^9 нуклеотидов, около 10% которых входят в кодирующие последовательности, т.е. такая частота типична для 6×10^8 нуклеотидов генома. Из этого следует, что в каждом геноме за один раунд репликации возникает около 1×10^{-3} мутаций в кодирующих участках структурных генов.

В настоящее время путем сравнительного анализа полностью секвенированных геномов родителей и двух однояйцовых близнецов частота мутаций определена в расчете на нуклеотид в гаплоидном наборе человека (3×10^9 нуклеотидов). Частота спонтанных замен при таком расчете достигает $\sim 1.1 \times 10^{-8}$ на нуклеотид за одну репликацию [16].

У человека каждую секунду делится приблизительно 10^7 клеток [17], следовательно, каждую секунду появляется 10^3 клеток, несущих нуклеотидные замены только в белкокодирующих последовательностях. Важно подчеркнуть, что в данном случае речь идет о реализованных мутациях.

Однако таким мутациям предшествуют повреждения ДНК в потенциальных сайтах мутирования, поскольку они могут легко репарироваться, а могут и реализоваться в мутации. Их возникновение обычно обусловлено гидролизом, окислением или электрофильными воздействиями на молекулы ДНК. Эти реакции происходят в результате экзогенных воздействий, в том числе и ионизирующего излучения, они могут возникать и в результате эндогенных метаболических процессов. Эндогенными причинами обусловлено большое количество разнообразных повреждений

ДНК [17]. Так, например, апуриновые/апиримидиновые (AP) сайты в ДНК могут возникать в результате спонтанного гидролиза или эксцизионной репарации с участием ДНК-гликозилазы. AP-сайты быстро репарируются AP-эндонуклеазой, катализирующей гидролиз 5'-фосфодиэфирной связи с последующим удалением 3'-фосфата (с участием лиазной активности ДНК-полимеразы β) [18]. Накамура и Свенберг [19] подсчитали количество AP-сайтов в ДНК тканей. Они нашли, что количество таких сайтов в геноме клеток большинства тканей человека и грызунов достигает 50000–200000 (т.е. примерно 10^{-5} – 10^{-4} на нуклеотид). Видно, что такие повреждения возникают на 6–7 порядков чаще, чем замены нуклеотидов в структурных генах. Типичные AP-сайты индуцируют нуклеотидные замещения (обычно А → Т) или могут приводить к мутациям по типу сдвига рамки считывания. Подобные мутации обнаружены в микросателлитных локусах плазмиды после ее обработки H_2O_2 . Количество AP-сайтов увеличивается при обработке клеток окисляющими или метилирующими агентами.

Достаточно давно известно, что воздействие кислородных радикалов приводит к появлению в ДНК множества окисленных оснований и к разрывам цепи. Менее часто обсуждают модификации оснований, которые возникают в результате других окислительных процессов. Так, полиненасыщенные жирные кислоты – одни из основных компонентов фосфолипидов мембран, характеризуются высокой чувствительностью к окислению и представляют собой главную мишень для кислородных радикалов [18]. При окислении полиненасыщенных жирных кислот образуются бифункциональные электрофильные группы, которые могут взаимодействовать с основаниями ДНК, приводя к возникновению экзоциклических соединений. Подобные модифицированные основания, несущие экзоциклические группы, нарушают двойную спираль ДНК и потенциально рассматриваются как высокомутагенные сайты.

Экзоциклические этеновые группы (обозначаемые как ϵ : ϵA , ϵC и $N^2,3-\epsilon G$) обнаружены в ДНК из разных тканей человека, их уровень возрастает при повышении содержания кислородных радикалов. При окислительном стрессе в тканях грызунов находят $N^2,3-\epsilon G$. Количество ϵA , ϵC повышено при болезни Вильсона и болезнях, связанных с накоплением в печени меди и железа [20]. При накоплении ионов металлов возрастает скорость окисления ненасыщенных жирных кислот. Уровень этеновых групп повышен также в ДНК полипов больных семейным аденоматозным полипозом, а также, что интересно, в ДНК лейкоцитов крови женщин, пища которых содержит большое количество ненасыщенных жирных кислот, при том что у мужчин этот эффект отсутствует [20].

Количество ϵA , ϵC возрастает на стадии промотирования опухолей в двухстадийной мышинной модели рака кожи [21]. Обработка опухолевым промотором форболовым эфиром (тетрадеканойлфорбол-13-ацетат) приводит к 9–12-кратному увеличению ϵA и ϵC соответственно. Это повышение уровня повреждений ДНК коррелирует с индукцией оксигеназы жирных кислот (8-липоксигеназы).

Особое внимание уделяется в последнее время транзициям $C \rightarrow T$ в CpG-островках, поскольку эти мутации очень часто выявляют при онкологических заболеваниях и ряде других патологий. Предполагается, что важным моментом в возникновении таких транзиций является метилирование цитозина.

Перестройки больших участков ДНК могут лежать в основе возникновения хромосомных транслокаций, приводящих, в частности, к утрате гетерозиготности, часто наблюдающейся в опухолевых клетках. Хромосомные изменения начинаются с двойных разрывов ДНК, индуцируемых окислительным стрессом или ферментативным расщеплением в процессе реорганизации хроматина (например, ДНК-топоизомеразой II). В ходе репликации ДНК возникает примерно 10 двойных разрывов ДНК на клеточный цикл в виде заблокированных репликативных вилок [22]. Очевидно, что факторы, приводящие к появлению двухцепочечных разрывов, как и пути их репарации, вносят важный вклад в процессы эндогенного мутагенеза.

Исследования на животных с дефицитом различных ферментов репарации двухцепочечных разрывов свидетельствуют о существенном вкладе таких модификаций в возникновение мутационных событий как на нуклеотидном, так и на хромосомном уровне.

В общем очевидно, что высокая частота спонтанных мутационных событий приводит к тому, что для реализации мутагенных эффектов ключевым становится не возникновение повреждений, а активность их репарации, как, например, у выживающего при облучении в 5000 Гр вида *Deinococcus radiodurans* [23].

Изучение механизмов спонтанного повреждения генетического материала, каждый из которых может реализоваться в мутацию с непредсказуемым эффектом как для клетки, ее клонального потомства, так и для многоклеточного организма в целом, свидетельствует о многоэтапности этих событий. Включение в этот каскад факторов ионизирующего излучения будет служить дополнительным источником повышения вероятности перехода потенциальных повреждений ДНК в мутации.

Следующий уровень контроля генетического постоянства многоклеточного организма, препятствующий накоплению мутантных клеточных клонов,

обусловлен разными вариантами гибели генетически дефектных клеток, а также участием клеток иммунной системы в элиминации мутантных клонов [24]. Очевидно, что на этой стадии ионизирующее излучение может обладать двойственным эффектом: увеличивать долю гибнущих мутантных клеток и ослаблять скорость их элиминации путем подавления эффекторных клеток иммунной системы.

Размножение мутантных клонов клеток герминативного ряда, появление мутантного потомства контролируются целым каскадом событий, каждое из которых может быть модифицировано действием ионизирующего излучения.

Интересно отметить, что в наших собственных исследованиях [25] было обнаружено, что у мышей линии CC57W/Mv под влиянием поглощенного ионизирующего облучения в дозе 0.4–0.5 Гр повышена (относительно контроля) доимплантационная смертность эмбрионов и замедлено дробление эмбрионов в условиях *in vitro*. Важно подчеркнуть, что доимплантационные эмбриональные потери у млекопитающих сложно контролировать, и проявляются они общим снижением плодовитости популяции.

Анализ событий мутагенеза на геномном, клеточном и организменном уровнях свидетельствует о том, что характеристики его изменений под влиянием низких доз ионизирующего излучения зависят от множества факторов, связанных как с генетически детерминированными процессами, так и с модифицирующим действием факторов окружающей среды. Сложность взаимодействий генетической и средовой компонентов не позволяет рассматривать отдельные характеристики мутагенеза как интегральные показатели влияния низких доз ионизирующего излучения на многоклеточные организмы. По-видимому, наиболее объективным показателем может быть снижение плодовитости популяции.

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЖИВЫЕ ОБЪЕКТЫ ДОЗАХ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ

К настоящему времени накоплено большое количество экспериментальных наблюдений последствий повышения уровня ионизирующего облучения у разных видов, в том числе и у человека. К самым распространенным способам оценки последствий повышения уровня ионизирующего облучения на здоровье относятся определение роста числа онкологических заболеваний; частот встречаемости делящихся клеток (как правило, в периферической крови) с повреждениями генетического аппарата; доли детей, родившихся с врожденными аномалиями [26]. К настоящему времени единственный показатель ухудшения здоровья населения после чернойбыльской аварии, который не вызывает спо-

ров, – увеличение частоты встречаемости рака щитовидной железы [26]. Особенностью данных о цитогенетических аномалиях в соматических клетках является высокая индивидуальная изменчивость характеристик дестабилизации хромосомного аппарата, а также отсутствие четких линейных зависимостей выраженности дестабилизации кариотипа от радионуклидной загрязненности места обитания [27], количества изотопов цезия в организме [28, 29].

Лабораторные и полевые исследования свидетельствуют о том, что повышение уровня ионизирующего излучения в ряде случаев, даже в низкодозовом диапазоне (до 20–30 мГр), сопровождается увеличением частоты особей, у которых повышена доля соматических клеток с различными мутациями [27, 29]. В то же время после Хиросимы и Нагасаки принято считать, что повышение частоты онкологических заболеваний, обусловленное увеличением уровня ионизирующего излучения, начинает отчетливо проследиваться только после того, как поглощенная доза превысит 100 мЗв/год. Однако накопленные после чернобыльской аварии данные свидетельствуют о том, что повреждающие дозы могут быть существенно меньше, что требует пересмотра теории повреждающих доз [30]. Явное противоречие между наблюдением эффектов на уровне клеточных популяций, отдельных особей и статистическими среднепопуляционными анализами может иметь целый ряд причин, выяснение которых имеет особую важность для разработки объективных методов прогноза повреждающего действия ионизирующего излучения в низких дозах и поиска интегральных показателей такого действия.

Лейкоз – первое онкологическое заболевание, увеличение частоты которого связано с последствиями атомных взрывов в Хиросиме и Нагасаки, а пик наблюдался через 5 лет после бомбежки. Через 10 лет был отмечен рост числа солидных опухолей. Чаще всего встречался хронический лимфоцитарный лейкоз, рак поджелудочной и предстательной железы, а также матки. Даже через 55 лет после атомной бомбардировки 40% людей, изначально включенных в программу изучения переживших атомный взрыв, продолжают жить, что позволяет оценить долговременные последствия такого облучения. Оказалось, что относительный риск разных заболеваний на единицу дозы у выживших после бомбежек выше, чем у получивших медицинские дозы облучения. У работников атомных станций и шахтеров риск заболеть в среднем сопоставим с риском в некоторых группах населения, переживших взрывы атомных бомб. Риск соматических заболеваний у получивших первичное облучение в равных дозах уменьшается при увеличе-

нии возраста, в котором это произошло. У переживших атомную бомбардировку повышена частота различных заболеваний дыхательной, пищеварительной и сосудистой систем [31, 32].

После чернобыльской аварии в Англии, Шотландии, Греции, Германии, Белоруссии проанализировали связь между поглощенными плодом дозами и частотой развития лейкозов у детей. Суммарные поглощенные плодом дозы варьировали от 0.02 мЗв в Англии, 0.06 мЗв в Германии, 0.2 мЗв в Греции и 2 мЗв в Белоруссии. Выявлено статистически значимое повышение риска заболеть лейкозом у рожденных в пик облучения – от 01.07.1986 до 31.12.1987 по сравнению с детьми, рожденными между 01.01.1980 и 31.12.1985, а также между 01.01.1988 и 31.12.1990. В отдельных странах риск увеличивается немонотонно по сравнению с поглощенной дозой – резко возрастает при низких дозах, затем падает при высоких дозах. Полученные данные обсуждаются в связи с механизмами гибели плодов/клеток при высоких дозах и дозозависимой индукцией репарации ДНК. Накопленные результаты указывают на необходимость пересмотра представлений о повреждающих поглощенных дозах для плода [33]. У детей, получивших повышенные дозы ионизирующего излучения в период от 0 до 5 лет после рождения, также наблюдалось повышение частоты лейкозов, коррелирующей с поглощенными дозами (выше 10 мГр) [34]. Тем не менее важно подчеркнуть, что зависимость развития онкологических заболеваний от многих факторов одновременно (особенно лейкозов), сложность диагностики и классификации, а также успехи в лечении затрудняют оценку вклада радионуклидного загрязнения после чернобыльской аварии в динамику онкопатологии и ранней смертности в странах Европы [35].

В то же время имеются данные, согласно которым среди детей, рожденных от отцов-ликвидаторов, частота врожденных пороков развития превышает среднюю частоту в Российской Федерации [36]. Выполненный Г.И. Лазюком и коллегами анализ Белорусского национального регистра врожденных пороков развития за 1983–1999 годы позволил выявить рост рождаемости детей с врожденными пороками развития в регионах с высоким уровнем радионуклидного загрязнения после чернобыльской аварии [37].

Показано, что высокие и низкие дозы ионизирующего облучения оказывают беспороговые эффекты на сердечно-сосудистую систему. В формировании этих эффектов вовлечены по крайней мере два механизма: воздействие на образование на стенке сосудов обогащенных макрофагами атеросклеротических бляшек, связанных с процессами воспаления,

и снижение в связи с этим кровоснабжения сердечной мышцы. Само проявление патологии сердечно-сосудистой системы после облучения имеет большой лаг-период, особенно после получения низких доз [38].

Обнаружено, что в 1987 году после аварии на Чернобыльской АЭС мальчиков в Баварии и Дании родилось больше, чем девочек [39]. Смертность новорожденных существенно возросла в 1987–1988 годах [40].

Молодые люди, получившие дозы ионизирующего излучения *in utero*, имели существенно более низкий IQ, чем контрольная группа того же возраста. Различия ограничиваются вербальным IQ, но не выражены по невербальному IQ. Эти эффекты отсутствовали в группе лиц, получивших облучение после 16 нед. внутриутробного развития [41].

Нами определены частоты встречаемости цитогенетических аномалий в клетках периферической крови и костного мозга различных лабораторных и диких видов мелких мышевидных грызунов, воспроизводимых в условиях зоны отчуждения Чернобыльской АЭС (ЧАЭС). Эта зона является уникальной модельной системой для изучения популяционно-генетических преобразований, вызванных изменением направления и интенсивности естественного отбора. После катастрофы на ограниченной территории произошло резкое изменение целого комплекса экологических факторов, и на фоне этих изменений обитают представители различных таксономических групп, в том числе высшие млекопитающие. Важно еще и то, что известен главный компонент запуска этой экологической катастрофы – выброс радионуклидов. Следует подчеркнуть, что в лабораторных условиях невозможно моделирование действия сетевых, взаимосвязанных изменений множества условий воспроизводства популяции под действием даже одного фактора экологического стресса (например, повышения радионуклидного загрязнения), а в полевых условиях, как правило, невозможен семейный анализ наследования индуцированных изменений в поколениях.

Для того чтобы оценить возможное направление популяционно-генетических изменений под влиянием увеличения ионизирующего облучения в зоне отчуждения ЧАЭС с учетом генетической гетерогенности биоиндикаторных видов в полевых условиях, в настоящей работе выполнен сравнительный анализ долговременных изменений как в поколениях генетически гомогенной лабораторной линии мышей СС57W/Mv, так и у видов полевок, отловленных в 1994–2001 годах в зоне отчуждения ЧАЭС, в местах с различными уровнями радионуклидного загрязнения. Цитогенетическую изменчивость в поколениях

генетически гомогенной популяции анализировали с использованием созданных в Институте молекулярной биологии и генетики НАН Украины двух популяций мышей линии СС57W/Mv – чернобыльской (специвиарий в 10-километровой зоне влияния ЧАЭС) и контрольной (виварий в г. Киеве). Эти популяции были любезно предоставлены академиком НАНУ С.С. Малютой. Анализировали клетки костного мозга мышей первого и второго поколения киевской популяции (К-1, К-2) и первого, второго, пятого, седьмого и десятого поколений чернобыльской популяции (Ч-1, Ч-2, Ч-5, Ч-7 и Ч-10), воспроизводимых в специвиарии при расчетной поглощенной дозе излучения около 0.6 Гр на животное.

Определены мутационные спектры у представителей видов полевок (*Microtus arvalis* и *Clethrionomys glareolus*), отловленных в зоне отчуждения ЧАЭС в местах с низким уровнем радионуклидного загрязнения ($< 5 \text{ Ки/км}^2$), которые рассматривали как спонтанные (условно контрольные), в условиях промежуточного уровня радионуклидного загрязнения ($\sim 200 \text{ Ки/км}^2$ – Янов, расчетная поглощенная доза – около 0.6–0.8 Гр/год) и при высоких уровнях ($500\text{--}1000 \text{ Ки/км}^2$, оз. Глубокое, Чистогаловка, «Рыжий лес», расчетная поглощенная доза – около 0.9–1.1 Гр/год).

В клетках костного мозга животных учитывали следующие цитогенетические характеристики: два типа анеуплоидии, полиплоидию, частоту встречаемости метафаз с хромосомными aberrациями (ХА), с центромерными слияниями по типу Робертсоновских транслокаций (РБ) и с асинхронностью расщепления центромерных районов хромосом в конце метафазы (АРЦР). Процент анеуплоидных клеток рассчитывался в двух вариантах – клетки с утратой или приобретением хромосом, больше чем одна (общая анеуплоидия, А1), а также анеуплоидные клетки с числом хромосом $2n \pm 1$ (А2). Количество двуядерных лейкоцитов (ДЯ) и лейкоцитов с микроядрами (ЛМЯ) подсчитывали на тех же препаратах в клетках с сохраненной цитоплазмой. Митотический индекс (МИ), частоты встречаемости ДЯ, ЛМЯ рассчитывали на 1000 клеток.

У мышей линии СС57W/Mv обнаружено существенное увеличение частот цитогенетических аномалий в мутационных спектрах чернобыльской популяции (в частности, метафаз с хромосомными aberrациями: $0.9 \pm 0.2\%$ в контроле и $6.0 \pm 2.0\%$ в экспериментальной популяции). В то же время ответ на один и тот же уровень повышенного ионизирующего излучения статистически значимо отличался в группах линейных мышей разного возраста (табл. 1, 2), а также в поколениях экспериментальной популяции (табл. 3).

Таблица 1. Частота встречаемости микроядер в 1000 эритроцитов (ЭМЯ) периферической крови мышей линий СС57W/Mv разного возраста из черновыльської и киевской популяций в разные сезоны

Сезон	ЭМЯ, контроль, ‰		ЭМЯ, Чернобыль, ‰	
	2.5–3.5 мес.	14–16 мес.	2.5–3.5 мес.	14–16 мес.
Зима 1993	2.5 ± 0.7	2.7 ± 0.9	10.0 ± 1.0	4.0 ± 1.0
Лето 1994	3.0 ± 0.8	3.2 ± 0.7	6.5 ± 1.0	3.8 ± 0.3

Таблица 2. Частоты клеточных делений и цитогенетических аномалий у «молодых» и «старых» мышей линии СС57W/Mv в контроле (Киев) и в Чернобыле

Группа мышей	Возраст, мес.	МИ, ‰	ДЯ, ‰	ЛМЯ, ‰
«Молодые» контрольные мыши (Киев)	2–3	6.8 ± 0.5***	4.5 ± 0.7	5.2 ± 0.3**
«Молодые» экспериментальные мыши (Чернобыль)	2–3	5.6 ± 0.7	9.0 ± 1.4*	14.4 ± 2.4**
«Старые» контрольные мыши (Киев)	12–18	3.5 ± 0.6***	7.1 ± 1.3	10.5 ± 1.3*
«Старые» экспериментальные мыши (Чернобыль)	12–18	7.0 ± 1.0*	5.0 ± 0.8*	6.0 ± 0.8*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Примечание. Здесь и в табл. 3 и 4 МИ – количество метафаз на 1000 клеток, ДЯ – количество двуядерных лейкоцитов на 1000 клеток, ЛМЯ – количество моноядерных лейкоцитов с микроядрами на 1000 клеток.

По данным, представленным в табл. 1, видно, что частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами в контрольных группах «молодых» и «старых» животных, определенные в разные сезоны, не имеют статистически значимых различий. Однако у черновыльских «молодых» животных этот показатель оказался существенно выше, чем в контрольной популяции и у «старых» животных. Результаты этих исследований (табл. 1) позволяют предположить, что возрастные изменения сопровождаются уменьшением чувствительности эритробластов к повреждающим воздействиям. Можно ожидать, что в данном случае у «старых» животных протекают процессы физиологической адаптации к более длительному действию хронического низкодозового облучения по сравнению с «молодыми». Обнаружено, что процессы такой физиологической адаптации сопровождаются увеличением количества делящихся клеток и определенным ускорением клеточного цикла, если судить по количеству двуядерных лейкоцитов на один митоз в клетках костного мозга групп «старых» контрольных и черновыльских животных (табл. 2).

Анализ частот встречаемости цитогенетических аномалий в клетках костного мозга «молодых» мышей линии СС57W/Mv в последовательных поколениях (Ч-1, Ч-2, Ч-5, Ч-7, Ч-10), воспроизводящихся

в условиях хронического воздействия повышенного ионизирующего облучения, позволил обнаружить нелинейность изменений ряда цитогенетических характеристик в поколениях генетически однородных животных (табл. 3). Оказалось, что частота таких цитогенетических характеристик, как РБ, ХА, АРЦР, связанных непосредственно с внутрихромосомными повреждениями, снижается к пятому поколению, повышается к седьмому и опять снижается – к 10-му поколению. Сходный рисунок изменчивости в поколениях отмечен и в случае доли анеуплоидных клеток второго типа ($2n = 40 \pm 1$ хромосома). Частоты встречаемости цитогенетических аномалий остальных типов повышены только у черновыльских мышей первого поколения по сравнению с контрольными популяциями (табл. 3).

Нелинейная изменчивость в поколениях генетически однородных мышей, определяемая по встречаемости клеток с внутрихромосомными дефектами, может свидетельствовать о том, что интенсивность повреждений, вызванных длительным воздействием ионизирующего излучения в низкодозовом диапазоне, сопоставима с активностью процессов репарации таких повреждений, элиминации поврежденных клеток, а также со скоростью размножения замещающих, неповрежденных клеточных клонов. Полифакторность механизмов физиологической адаптации

Таблица 3. Изменчивость цитогенетических характеристик у мышей линии СС57W/Мv в поколениях (Ч-1, Ч-2, Ч-5, Ч-7, Ч-10), воспроизводящихся в условиях специфического варианта ЧАЭС по сравнению с контрольными популяциями К-1 и К-2 (средние значения)

Поколения	Анеуплоиды, %		Полиплоиды, %	Частота встречаемости метафаз, %			Количество на 1000 клеток, ‰		
	A1	A2	ПП	РБ	ХА	АРЦР	МИ	ДЯ	ЛМЯ
К-1	23 ± 1	10 ± 1	8 ± 1	10 ± 1	0.9 ± 0.4	0.7 ± 0.3	6.0 ± 0.7	6.0 ± 0.6	6.0 ± 0.7
К-2	27 ± 5	10 ± 1	4 ± 1	9 ± 3	2.0 ± 0.1	2.0 ± 1.0	7.0 ± 0.6	5.0 ± 0.5	5.0 ± 0.4
Ч-1	30 ± 2	12 ± 1	4 ± 2	11 ± 3	6.0 ± 2.0	5.0 ± 1.0	7.0 ± 1.0	10.0 ± 1.5	14.0 ± 2.0
Ч-2	28 ± 3	5 ± 3	9 ± 2	8 ± 2	6.0 ± 3.0	7.0 ± 1.0	7.0 ± 1.0	5.0 ± 0.9	6.0 ± 1.0
Ч-5	34 ± 5	5 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	0.5 ± 0.2	1.0 ± 1.0	8.0 ± 1.0	7.0 ± 0.4	6.0 ± 0.4
Ч-7	35 ± 2	7 ± 1	2 ± 1	8 ± 1	4.0 ± 1.0	4.0 ± 1.0	7.0 ± 0.7	8.0 ± 1.0	5.0 ± 2.0
Ч-10	20 ± 2	3 ± 1	3 ± 1	1.0 ± 0.2	4.5 ± 1.0	2.5 ± 0.4	6.0 ± 0.7	7.0 ± 1.0	5.0 ± 0.4

Примечание. Здесь и в табл. 4 А1 – общая анеуплоидия; А2 – анеуплоидия $2n \pm 1$ хромосома; ПП – доля полиплоидных клеток; РБ – доля клеток с центрическими слияниями хромосом по типу Робертсоновских транслокаций; ХА – частота метафаз с хромосомными aberrациями; АРЦР – доля клеток с асинхронностью расщепления центромерных районов хромосом в конце метафазы.

Таблица 4. Частоты встречаемости различных цитогенетических аномалий в клетках костного мозга у особей рыжей полевки, отловленных в местах с разным уровнем радионуклидного загрязнения

Частота встречаемости метафаз, %						Количество на 1000 клеток костного мозга, ‰		
A1	A2	РБ	ПП	АРЦР	ХА	МИ	ДЯ	ЛМЯ
Контроль								
33.7 ± 6.0	9.0 ± 3.5	14.0 ± 3.5	0.5 ± 0.5	6.2 ± 3.6	1.2 ± 0.7	3.2 ± 0.6	3.5 ± 0.6	5.5 ± 1.5
Общее Янов за 1997–1999 годы								
31.2 ± 2.4	8.9 ± 3.7	13.9 ± 6.0	6.9 ± 5.6	10.1 ± 4.1	8.1 ± 4.0	5.7 ± 1.0	5.2 ± 0.8	3.2 ± 0.8
«Рыжий лес» 1999 год								
34.6 ± 6.2	10.5 ± 3.0	22.6 ± 3.6	1.2 ± 0.7	9.6 ± 1.3	3.5 ± 0.8	5.2 ± 1.2	3.7 ± 1.1	6.5 ± 0.7
«Рыжий лес» 2001 год								
35.2 ± 2.8	6.3 ± 1.1	12.9 ± 3.1	0.5 ± 0.4	11.8 ± 2.8	0.9 ± 0.3	8.0 ± 2.5	9.8 ± 1.7	8.0 ± 1.2

животных к ионизирующему излучению, сопоставимость интенсивности действия разнонаправленных факторов могут приводить к последовательному повышению и понижению частоты встречаемости цитогенетических аномалий на фоне относительно постоянного уровня действия повреждающего агента у генетически однородных животных.

Анализ генетически гетерогенных популяций полевок, отловленных в разные годы в местах с разным уровнем радионуклидного загрязнения, позво-

лил получить данные о том, что в популяциях рыжей и обыкновенной полевки, обитающих в местах с высоким уровнем радионуклидного загрязнения, к 1999 и 2001 годам отчетливо выражена селекция животных с повышенной радиорезистентностью (табл. 4 и 5).

Так, в популяциях рыжей полевки, отловленных в 1999 и 2001 годах в местах с максимально высоким уровнем радионуклидного загрязнения, обнаружены в основном животные, в клетках костного мозга кото-

Таблица 5. Частоты встречаемости различных цитогенетических аномалий в клетках костного мозга у особей обыкновенной полевки, отловленных в местах с разным уровнем радионуклидного загрязнения

Частота встречаемости метафаз, %						На 1000 одноядерных лимфоцитов, ‰		
A1	A2	ПП	РБ	ХА	АРЦР	МИ	ДЯ	ЛМЯ
Контроль								
44.4 ± 5.1	8.6 ± 0.8	0.9 ± 0.5	1.0 ± 0.5	2.5 ± 0.6	16.5 ± 4.9	4.5 ± 0.9	5.0 ± 0.8	3.0 ± 0.4
2001 год, Чистоголовка, оз. Глубокое, ~500 Ки/км ²								
26.5 ± 2.7	3.1 ± 0.8	1.8 ± 0.4	0.3 ± 0.3	2.5 ± 0.3	17.6 ± 4.1	6.1 ± 0.6	7.8 ± 1.6	3.1 ± 0.5

рых частота встречаемости цитогенетических аномалий не только не больше, чем в условно контрольной популяции, но по отдельным характеристикам даже меньше (табл. 4). Видно, что повышение количества радиоустойчивых особей рыжей полевки наиболее выражено в популяции «Рыжего леса» (1000 Ки/км²). В местах с существенно меньшим уровнем радионуклидного загрязнения (Янов, ~200 Ки/км²) такая селекция не наблюдалась.

Похожие данные получены и при исследовании популяций обыкновенной полевки (табл. 5).

Таким образом, в генетически гетерогенных популяциях двух видов полевок, отловленных в местах с высоким уровнем радионуклидного загрязнения, наблюдается накопление предположительно радиорезистентных особей в поколениях, как и у генетически однородной лабораторной линии мышей, а также снижение частоты встречаемости некоторых типов цитогенетических аномалий ниже типичных для контрольных популяций.

По-видимому, источники таких нелинейных ответов на ионизирующее излучение в низкодозовом диапазоне могут быть многочисленными, реализовываться на разных этапах действия ионизирующего излучения и на разных уровнях организации многоклеточных организмов. Так, сложный каскад биохимических событий может запускаться в результате индукции ионизирующим излучением свободнорадикальных процессов в клетке [42]. Накопление свободных радикалов приводит к активации антиоксидантных ферментов, ограничивающих свободнорадикальные процессы, к которым относятся супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза [43]. Активация этих ферментов может быть специфичной для отдельных тканей и клеточных органелл. Обнаружено, например, что изменение антиоксидантной активности митохондрий прямо связано со стабильностью хромосомного аппарата клеток. У мышей с дефектом

митохондриальной супероксиддисмутазы в клетках костного мозга появляются типичные «лучевые» маркеры – робертсоновские транслокации, дицентрики, кольцевые хромосомы [44]. Описано повышение радиоустойчивости хромосом человека при увеличении активности теломеразы [45] и ее снижение при нарушении белков хроматина, которые препятствуют реализации двухцепочечных разрывов ДНК в мутации [46]. Показано существование «субстратной» индукции процессов репарации ДНК: оказалось, что большое количество двухцепочечных разрывов ДНК, которые образуются после облучения фибробластов человека в дозе 2 Гр, репарируется много быстрее, чем немногочисленные разрывы, возникшие после облучения в дозе 200 мГр [47]. Можно ожидать также, что определенный вклад в нелинейные ответы многоклеточных организмов на одну и ту же дозу ионизирующего излучения могут вносить и межклеточные взаимодействия, такие, как изменение соотношений между высокоспециализированными и низкодифференцированными клеточными популяциями. У млекопитающих вклад в такой ответ может вносить и соотношение между эффекторными клетками иммунной системы, которые отличаются по радиочувствительности, а также представленность на плазматической мембране поврежденных клеток антигенных структур, опознаваемых киллерными клетками [48].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в поколениях генетически однородных и генетически гетерогенных популяций мелких мышевидных грызунов частоты встречаемости некоторых типов цитогенетических аномалий изменяются нелинейно на фоне длительного воздействия низких доз ионизирующего излучения. Можно ожидать, что подобная нелинейность обусловлена множественностью и разнонаправленностью имеющихся и индуцируемых излучением репарационных процессов на клеточном и субклеточном уровнях, а также со-

поставимого с ними по интенсивности повреждающего действия экзогенного фактора. По-видимому, нелинейность эффектов исчезает только тогда, когда интенсивность повреждающего действия ионизирующего излучения существенно превышает возможности полифакторных механизмов адаптации.

В наших экспериментах на трех разных лабораторных линиях мышей (чернобыльские популяции – спецвиварий в 10-километровой зоне влияния ЧАЭС; контрольные – виварий в г. Киеве) установлено, что в контрольных условиях каждая линия имеет свой спектр спонтанных мутаций в клетках костного мозга, и только некоторые характеристики этого спектра меняются в связи с возрастом и сезоном исследования [49]. Так, для мышей C57BL/6 типично нарастание анеуплоидии (хромосомных потерь) с возрастом и при переходе к летнему сезону. У мышей линии CC57W/Mv возрастные и сезонные изменения были связаны преимущественно с внутрихромосомными дефектами (хромосомными абберациями), а у мышей BALB/c с долей полиплоидных клеток. В условиях повышенного уровня ионизирующего излучения в спецвиварии около Чернобыльской АЭС (поглощенные дозы около 0.5–0.6 Гр/год) наблюдалось повышение частот встречаемости только тех аномалий, спонтанная нестабильность которых обнаруживалась в контрольных условиях. Например, в линии C57BL/6 увеличивалась частота анеуплоидных клеток, в линии CC57W/Mv – метафаз с хромосомными абберациями. Таким образом, в данном случае повышение ионизирующего излучения не приводило к появлению новых характеристик в мутационных спектрах мышей, а только усиливало спонтанную нестабильность отдельных, специфичных для линий, характеристик таких спектров.

Оказалось, что у полевок, отловленных в местах с повышенным уровнем радионуклидного загрязнения, наблюдается та же тенденция. В клетках костного мозга накапливаются именно те цитогенетические аномалии, повышенная изменчивость которых видоспецифична и для полевок, обитающих в относительно чистых местах: для рыжей полевки – метафаз с робертсоновскими межхромосомными слияниями, для обыкновенной полевки – анеуплоидов. Полученные данные позволяют предполагать, что повышение уровня ионизирующего излучения (в пределах, исследованных нами) у лабораторных линий мышей и у полевок только увеличивает частоту встречаемости цитогенетических аномалий, которые отличаются повышенной изменчивостью, специфичной для линии (у мышей) и вида в контрольных условиях. Сложность анализа таких мутационных спектров еще более возрастает, поскольку у исследованных животных наблюдается

выраженная предрасположенность индивидуальных хромосом к возникновению цитогенетических аномалий определенного типа.

Проведен также сравнительный анализ частот встречаемости различных хромосомных поломок в клетках крови детей 14–15 лет. В одну группу вошли дети, получившие ионизирующее излучение в дозе около 30 мЗв в период эмбрионального развития, вторая группа состояла из детей, получивших приблизительно такую же дозу, но в течение всей жизни, поскольку жили в загрязненных радионуклидами местностях (около 1.5 мЗв/год) [50, 51]. Оказалось, что в этих двух группах детей частоты встречаемости клеток с цитогенетическими аномалиями были практически одинаковыми, однако, в первой группе (острое облучение в эмбриональном периоде) статистически значимо повышено число клеток со стабильными хромосомными аномалиями, такими, как транслокации, инверсии, инсерции. Полученные данные свидетельствуют о том, что в крови детей накапливаются клоны клеток с перечисленными аномалиями. Поскольку известен определенный параллелизм между частотой мутационных событий в популяциях соматических и генеративных клеток, а также то, что именно эти типы цитогенетических аномалий могут существенно осложнять прохождение мейоза, можно ожидать, что у детей, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения в эмбриональном периоде, будут возникать проблемы с репродуктивной функцией [50, 51].

Интересно отметить, что тенденция к увеличению чувствительности к ионизирующему излучению в связи с усложнением организма известна достаточно давно, т.е. чем древнее вид, тем он более устойчив к ионизирующему облучению. У млекопитающих средняя полулетальная доза ионизирующего излучения достигает 4–6 Гр, у кишечной палочки (*Escherichia coli*) – 30 Гр. Рекордсменом в этом отношении является бактерия *D. radiodurans*, отдельные клетки которой выживают и способны к воспроизводству после облучения в 5000 Гр [23]. Причем обнаружено, что сразу после облучения дозой в 3000 Гр практически вся геномная ДНК этого организма разрушена до небольших фрагментов, в среднем индуцируется один двухцепочечный разрыв ДНК на участок длиной в 27 т.п.н., а уже через 3 ч после воздействия геном начинает восстанавливаться без существенного накопления мутаций в структурных генах. В данном случае наблюдается не уникальная устойчивость генетического материала к ионизирующему облучению, а видоспецифичная способность к восстановлению его целостности. Обнаружено, что подобная способность к репарации повреждений ДНК ассоциирована у этого вида с генами засухоустойчивости;

мутации в которых приводят к исчезновению уникальной радиоустойчивости этого вида.

Считается, что увеличение точности («разрешения») генетических методов оценки повреждений хромосом при низкодозовых воздействиях позволит более точно выявить взаимосвязь между малыми дозами излучения и индуцируемыми ими мутационными событиями. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о появлении новых мутаций у детей облученных родителей в высокополиморфных последовательностях ДНК [52, 53]. Однако в работе Вейнбер и др. [52] с использованием RAPD-ПЦР-маркеров (Random Amplification of Polymorphic DNA), но не ISSR-ПЦР-маркеров (Inter Simple Sequence Repeats) получены данные о возникновении новых мутаций у детей ликвидаторов. В работе Дубровы и др. [53] установлено повышение частоты мутаций в трех из восьми исследованных минисателлитных локусов у детей, родители которых проживали в зонах повышенного радионуклидного загрязнения. То есть результаты анализа мутационных событий, обусловленных низкодозовыми воздействиями, зависели от использованных ДНК-маркеров (RAPD-ПЦР, но не ISSR-ПЦР) и от исследуемых локусов. Из этого следует, что при помощи существующих методов выявления мутационных событий непосредственно в ДНК принципиально не удается получить однозначных данных о генетических эффектах малых доз ионизирующего излучения, которые не зависели бы от способа анализа и особенностей изменчивости отдельных локусов.

Попытки оценить генетические последствия воздействий экотоксических факторов предпринимаются достаточно давно, и в этом развитии можно выделить два основных направления. Одно – это поиск молекулярно-генетических систем, связанных с детоксикацией и ферментами антиоксидантной защиты, второе – популяционно-генетические исследования динамики аллельных вариантов генетических систем, ассоциированных с устойчивостью к таким факторам.

Биомаркеры метаболизма ксенобиотиков принято подразделять на гены, продукты которых участвуют в метаболической активации промутагенов (проканцерогенов) с появлением короткоживущих высокотоксичных производных (в частности, гены цитохромов P450), и гены, продукты которых контролируют их детоксикацию, например, глутатион-S-трансферазы, N-ацетилтрансферазы. В последнее время в связи с использованием ПЦР удалось обнаружить прямые связи между генетически детерминированным полиморфизмом таких ферментов и чувствительностью к индукции рядом ксенобиотиков цитогенетических аномалий, нарушений ре-

продуктивной функции и развития некоторых типов опухолей у человека [54–56].

Второе направление развивается менее успешно, оно основано на изучении изменений структуры популяций, попадающих под действие экологического стресса, по распределению аллельных вариантов и генотипов структурных генов и анонимных (в отношении функции) высокополиморфных ДНК, участие которых в формировании чувствительности к генотоксическим агентам не установлено.

К настоящему времени обнаружены ассоциации между устойчивостью людей к ионизирующему излучению и наличием определенных генотипов в основном по локусам трансферрина и гаптоглобина [57, 58]. Японскими исследователями описана также повышенная частота встречаемости определенных генотипов по генам комплекса гистосовместимости у долгожителей «хибакуси» (переживших атомную бомбардировку Нагасаки и Хиросимы), что связывают с определенным статусом иммунной системы, способствующим повышенной устойчивости к ряду распространенных заболеваний [59].

Успех в поиске биомаркеров устойчивости к генотоксичным воздействиям во многом зависит от качества и адекватности моделей, используемых для изучения популяционно-генетических последствий экологических стрессов.

Очевидно, что глубину, направление и особенности популяционно-генетических последствий действия факторов экологического стресса можно оценить только в ряду поколений организмов, обитающих в условиях воздействия таких факторов.

Выявление генов и генных ансамблей, наследование которых предпочтительно и ассоциировано с отбором на устойчивость к новым условиям среды, может привести к разработке индивидуальных, так называемых «генетических паспортов» устойчивости к физическому и химическому загрязнению окружающей среды. Такие данные позволят контролировать популяционно-генетическую структуру вида и способствовать ее изменению в желательных направлениях.

В наших работах, подробно освещенных в монографии [49], выполненных на разных видах млекопитающих с использованием генетико-биохимических, молекулярно-генетических, цитогенетических методов получены следующие основные данные.

У ряда сельскохозяйственных видов животных под влиянием повышенного ионизирующего излучения (поглощенная доза – 0.6–0.8 Гр/год) происходит сдвиг спектров органоспецифических изоферментов, в основном, в тканях почек и сердца, причем в сердце начинает экспрессироваться ряд изоферментов, типичных для менее специализированной мышечной

ткани. В популяционных исследованиях разных видов млекопитающих не выявлено существенного увеличения числа особей с конститутивными мутациями. В поколениях крупного рогатого скота, получивших поглощенные дозы около 0.8 Гр/год (по цезию 137), обнаружено: а) снижение плодовитости и повышение смертности новорожденных телят; б) нарушение равновероятного наследования отдельных аллельных вариантов – элиминация одних и преимущественное наследование других; в) смещение генетической структуры родительского поколения, типичной для молочного скота, в сторону менее специализированных форм; г) изменение генетической структуры, совпадающее с популяционно-генетическими эффектами таких биотических и абиотических факторов стресса, как отбор на устойчивость к инфицированию вирусом лейкоза крупного рогатого скота, интродукция в новые условия воспроизводства. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что главный ответ на длительное воздействие низкодозового ионизирующего излучения заключается не в индукции появления новых генов, а в предпочтительном отборе в поколениях новых генных сочетаний. То есть, как это и соответствует положениям эволюционной теории, развитым в свое время И.И. Шмальгаузенем [60], изменение условий отбора приводит к предпочтительному воспроизводству наименее специализированных форм, что и наблюдается в поколениях крупного рогатого скота в условиях действия разных факторов экологического стресса.

Для изучения особенностей генетической структуры групп животных использовали как традиционные биохимические и молекулярно-генетические маркеры, позволяющие проанализировать полиморфизм по ряду локусов, кодирующих белки крови, так и маркеры интронной области гена лептина и экзона 4 гена к-казеина, фрагментов ДНК, фланкированных микросателлитными локусами (ISSR-ПЦР-маркеры). Оценили также информативность привлечения дополнительных характеристик генетической структуры пород – анализа закономерностей межлокусных ассоциаций генов [61]. Исследуемые локусы входили в различные группы сцепления [62]. Рассмотрены две группы синтенных генов (генов трансферрина и церулоплазмينا – хромосома 1; рецептора витамина D, к-казеина и гемоглобина – хромосома 6) и четыре несинтенных гена (ген амилазы-1 – хромосома 3, лептина – хромосома 4, пури-нуклеозидфосфорилазы – хромосома 10 и посттрансферрина-2 – хромосома 19).

В результате изучения генетической структуры в ряду поколений крупного рогатого скота, разводимого в условиях повышенного радионуклидного загрязнения – в зоне отчуждения Чернобыльской

АЭС, получены следующие данные. Только во втором поколении выявлено одно животное с мутацией в локусе трансферрина. Отмечено нарушение равновероятной передачи аллельных вариантов некоторых локусов от родителей к потомкам, а также изменение результатов оценки неравновесия по сцеплению ряда локусов. Показано, что в условиях повышенного радионуклидного загрязнения гетерозиготность в поколениях не уменьшается, несмотря на близкородственные скрещивания. Таким образом, на этой модели впервые установлен факт популяционно-генетических изменений у животных в условиях экологического стресса, а также показано, что такие изменения направлены в сторону преимущественного воспроизводства гетерозигот как по структурным генам, так и по «анонимным» участкам ДНК (ISSR-ПЦР-маркерам).

Далее мы сопоставили популяционно-генетические последствия не только повышенного уровня ионизирующего излучения, но и других биотических и абиотических факторов экологического стресса на генетическую структуру, оцениваемую с использованием различных молекулярно-генетических маркеров, внутривидовых групп разных пород крупного рогатого скота. Рассматривали следующие варианты действия экологических факторов. У породы красная степная в анализ вошли две группы животных, отличающиеся по устойчивости к действию фактора биотического стресса (инфицированные вирусом бычьего лейкоза и свободные от него) – из хозяйств Херсонской обл., относительно «чистой» в отношении техногенного загрязнения; и из хозяйств Кировограда и Донецка, для которых характерно повышенное химическое загрязнение (абиотический фактор). У породы пинцгау рассматривали три группы в связи с воспроизводством в равнинных, горных и высокогорных условиях (абиотический фактор). Серую украинскую породу представляли две группы – из Херсонской обл. (исходное местообитание) и из Алтайского края и Сибири (новые условия – абиотический фактор). У голштинской породы действие абиотического фактора выясняли, сравнивая генетическую структуру двух групп, одна из которых воспроизводилась в хозяйстве относительно чистой Херсонской области, другая (экспериментальное стадо) – в хозяйстве «Новошепеличи», в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС (радионуклидное загрязнение около 200 Ки/км², абиотический фактор). Популяционно-генетические исследования проводили с использованием различных маркеров, таких, как электрофоретические варианты белков, полиморфизм сайтов рестрикции, ISSR-ПЦР-маркеры.

Установлено, что влияние факторов экологического стресса может приводить к существенной генети-

ческой дифференциации групп животных, в некоторых случаях превышающей межпородные отличия. Выявлены два гена, кодирующие рецептор витамина D и пурин-нуклеозидфосфорилазу, выраженные отличия в частотах встречаемости аллелей которых обнаружены у групп крупного рогатого скота одной породы, находящихся в условиях разного экологического стресса (химическое загрязнение, интродукция в новые условия воспроизводства, инфицированность вирусом лейкоза крупного рогатого скота). Это позволяет предполагать существование универсальных характеристик популяционно-генетического ответа пород крупного рогатого скота на влияние разных факторов экологического стресса [63].

Анализ репродуктивных особенностей экспериментального стада крупного рогатого скота позволяет выяснить механизмы, благодаря которым у потомков родителей, подвергавшихся действию экотоксических факторов, изменяется генетическая структура и происходит удаление ряда аллелей и генотипов, ассоциированных с повышенной чувствительностью. Так, экспериментальное стадо, подвергавшееся действию повышенного уровня ионизирующего излучения (поглощенная доза – 0.8–1.1 Гр/год) включало родительское поколение (F0), состоящее из трех коров (Альфа, Бета, Гамма) и быка Урана, отловленных в 1987 году недалеко от ЧАЭС, а также из 13 коров, завезенных в 1990 и 1993 годах в хозяйство «Новошепеличи» (Припять) из относительно «чистых» зон. Коровы поколения F0 (всего 16) экспериментального стада, рожденные в «чистой» зоне, суммарно дали 96 телят (0.93 ± 0.03 теленка на корову в год), 20 из которых (21%) не дожили до 3 месяцев после рождения. Первое поколение (F1), родившееся в условиях экспериментального хозяйства «Новошепеличи», существенно отличалось от родительского по этому показателю. Так, из 36 коров F1 стерильными были 21 (58%), и только 15 принесли потомство (поколение F2, 0.73 ± 0.06), причем 13 телят из них умерли, не достигнув 3-месячного возраста (26%). Четыре коровы F2 родили всего 10 телят (F3) за 2–4 года, т.е. 0.94 ± 0.06 теленка от коровы в год. Обращает на себя внимание и тот факт, что среди 20 погибших телят F1 преобладали бычки (шесть телок и 14 бычков), а среди 13 погибших телят F2 соотношение полов было приблизительно одинаковым (семь телок и шесть бычков).

Таким образом, изменения в генетической структуре потомства, полученного от родителей, подвергавшихся воздействию экотоксических факторов, объясняются уменьшением рождаемости и повышением смертности новорожденных – носителей аллельных вариантов, ассоциированных с повышенной чувствительностью к данному фактору.

ПОСЛЕДСТВИЯ ПРОЖИВАНИЯ В РАДИОАКТИВНЫХ ПРОВИНЦИЯХ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

В разных районах земли имеется множество «радиоактивных» провинций, и в ряде из них к настоящему времени определены различные популяционно-генетические характеристики населения. Так, проведены широкие исследования населения, живущего в местностях с повышенным радиоактивным фоном (штат Карела в Индии, провинция Гуанфонт в Китае), где облученность населения за год составляет от 0.6 до 10 сГр. В результате не выявлено повышения уровня наследственных заболеваний населения [64, 65]. Обследование более 40000 беременных женщин, проживающих в местностях с повышенным радиоактивным фоном в Бразилии, не выявило повышения частоты спонтанных аборт и врожденных аномалий, хотя частота хромосомных aberrаций в клетках крови жителей тех же районов была несколько выше, чем в контрольных районах [66].

Наиболее известна провинция Рамзар в Иране, годовая поглощенная доза в которой равна 260 мЗв, при среднемировой дозе 3.5 мЗв/год. При этом у жителей Рамзара не обнаружено ни увеличения смертности, ни рождения детей с врожденными дефектами развития.

В то же время наблюдаются отчетливые отличия по радиорезистентности клеток крови жителей этой провинции по сравнению с жителями областей с низким естественным радиоактивным фоном. Так, облучение культуры клеток периферической крови жителей Рамзара дозой в 1.5 Гр приводило к существенно меньшему увеличению клеток с цитогенетическими аномалиями по сравнению с клетками крови контрольной группы [67].

Опубликованные к настоящему времени результаты исследования популяций жителей «радиоактивных» провинций свидетельствуют о том, что в таких местах из поколения в поколение идет отбор на повышение радиорезистентности. Так, в Китае за период 1979–1995 годов обследовано 125079 жителей «радиоактивной» провинции, проанализировано 10415 смертей и 1003 онкологических заболеваний. Обнаружено, что смертность от онкологических заболеваний в «радиоактивной» провинции была ниже, чем у жителей контрольной зоны [68]. В другой работе авторы пришли к выводу, что превышение уровня ионизирующего излучения в 3–5 раз не повышает вероятность возникновения онкологических заболеваний [69].

Не обнаружено существенных отличий по наличию врожденных патологий у новорожденных (26151) из «радиоактивной» провинции в Индии (около 35.0 мЗв/год) и у новорожденных (10654) из контрольной группы [70]. Обследование жителей другой «радиоактивной» провинции (выше 70 мЗв/год) Ин-

дии (400000 человек, 100000 из которых проживали в «радиоактивной» части провинции) не выявило отличий в частотах онкологических заболеваний в связи с высоким уровнем внешнего γ -облучения [71].

В популяциях из областей Индии, отличающихся на 0.03 мЗв/год внешнего облучения, ежегодное выявление онкологических заболеваний в расчете на 100000 человек последовательно уменьшается от одной области к другой параллельно с увеличением фонового уровня ионизирующего излучения на 0.03 мЗв/год – от гипотетической частоты онкологических заболеваний, равной 79 : 100000 человек, в условиях «нулевого» уровня внешнего облучения. Авторы приходят к выводу, что с ростом ионизирующего излучения уменьшается вероятность развития онкологических заболеваний [72].

Необходимо подчеркнуть, что среди 116000 человек, отселенных из Чернобыльской зоны, только около 5% получили дозу ионизирующего излучения более 100 мЗв/год, и именно эта доза (почти в 3 раза меньшая, чем в Рамзаре) считается тем пределом, после которого отчетливо возрастают частоты онкологических заболеваний [73].

Таким образом, реальную опасность представляет не сама полученная доза ионизирующего облучения, а ее «новизна» для данной популяции, вида или видовых сообществ. Очевидно, что у жителей Рамзара увеличение годовой дозы на 3.5 мЗв вряд ли будет приводить к каким-либо последствиям для здоровья, но в большинстве европейских популяций, не встречавшихся в ряду поколений с дозами выше 1 мЗв/год, такое изменение может привести к уходу из генофонда радиочувствительных особей и соответственно к изменению генетической структуры популяций.

Таким образом, в естественных условиях существует широкий диапазон доз ионизирующего облучения, с которыми совместимы жизнедеятельность и воспроизводство различных организмов, в частности человека. Это затрудняет выявление биологических эффектов малых доз, в том числе и генотоксичности.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НИЗКОДОЗОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ У РАЗНЫХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ: ЛАБОРАТОРНЫЕ ЛИНИИ МЫШЕЙ, ПОЛЕВКИ, КРУПНЫЙ РОГАТЫЙ СКОТ

Наши собственные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в условиях хронического действия повышенного уровня ионизирующего излучения число мутантных особей у исследованных видов не увеличивается. Повышение частоты соматических клеток с цитогенетическими аномалиями

не сопровождалось качественными изменениями по сравнению со спонтанными мутационными спектрами, поскольку возрастали только те показатели нестабильности хромосомного аппарата, которые имели генотипические особенности у линий мышей и видовые у полевок.

Сравнительный анализ мутационных спектров у полевок, проведенный в разные годы, показал, что со временем, несмотря на сохранение высокого уровня радиоактивного загрязнения в местах отлова, количество особей разных видов с высокой частотой мутантных клеток в костном мозге постепенно уменьшалось. У обыкновенной полевки и у рыжей полевки в 1996 году частота встречаемости животных с высокими уровнями цитогенетических аномалий была существенно выше, чем в относительно «чистых» зонах, и у животных, отловленных в тех же местах, но в более поздние годы, в 1999 и в 2001. Так, метафазы с хромосомными абберациями у обыкновенной полевки встречались в контроле с частотой $2.5 \pm 1.5\%$, а в Чистогаловке в 1996 и в 1999 годах – 3.6 ± 0.8 и 5.0 ± 2.3 , в 2001 году – с частотой $2.5 \pm 0.3\%$. У рыжей полевки в контроле таких метафаз было $1.2 \pm 0.7\%$, в «Рыжем лесу» в 1996 году – 7.3 ± 3.4 , в 1999 году – 3.5 ± 0.8 и в 2001 году там же – $0.9 \pm 0.3\%$ метафаз.

Важно подчеркнуть, что такое уменьшение, свидетельствующее о постепенном накоплении радиорезистентных особей, в случае рыжей полевки отчетливо наблюдается только у животных, отловленных в «Рыжем лесу» с очень высоким уровнем радионуклидного загрязнения (> 1000 Ки/км²), в отличие от животных, обитающих в местах с более низким уровнем радионуклидного загрязнения (Янов, ~ 200 Ки/км²). Таким образом, скорость отбора на радиорезистентность тем выше, чем выше уровень радионуклидного загрязнения. Обращает на себя внимание и то, что даже в участках зоны отчуждения с таким высоким уровнем радионуклидного загрязнения, как «Рыжий лес», накопление радиорезистентных особей обнаружено только в 1999 году, т.е. через 13 лет после чернобыльской аварии, после того как сменилось 26 поколений полевок (полевки размножаются 2 раза в год).

Интересно отметить, что сходные данные о селекции устойчивых особей на фоне неблагоприятных экологических условий получены нами для разных сельскохозяйственных видов, воспроизводящихся в условиях биосферного заповедника (Хубсугул, Монголия) и в зоне рискованного животноводства в южной части пустыни Гоби [74]. Проведен сравнительный анализ частот встречаемости эритроцитов с микроядрами в образцах крови местных монгольских пород крупного рогатого скота, овец, а также яков, воспроизводящихся в разных эколого-географических

условиях: северо-запад Монголии, район Хубсугул, биосферный заповедник; юг Монголии, район, примыкающий к пустыне Гоби – зона рискованного животноводства. Количество эритроцитов с микроядрами рассчитывали в 3000 клеток и выражали в промилле (‰). Частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами оказались близкими у разных видов, воспроизводящихся в одних и тех же экологических условиях, но существенно отличались от животных из разных эколого-географических регионов. Так, в районе биосферного заповедника с условиями, благоприятными для разведения, частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами оказались существенно выше, чем у животных тех же видов в зоне рискованного животноводства. В районе Хубсугул у овец (22) частота эритроцитов с микроядрами была $5.3 \pm 0.4\%$; у крупного рогатого скота (7) – $4.6 \pm 0.7\%$; у яков (7) – $3.2 \pm 0.6\%$; в пустыне Гоби у овец (10) – $0.9 \pm 0.1\%$; у крупного рогатого скота (7) – $1.8 \pm 0.6\%$; у яков (7) – $0.3 \pm 0.2\%$. Полученные данные свидетельствуют о том, что длительное действие факторов экологического стресса высокой интенсивности способствует отбору животных (в ряду поколений) с повышенной устойчивостью генетического аппарата к неблагоприятным средовым условиям.

В поколениях экспериментального стада «Новошепеличи» черно-пестрого голштиinizированного крупного рогатого скота наблюдается нарушение равновероятной передачи аллельных вариантов ряда молекулярно-генетических маркеров и рост гетерозиготности. В родительском поколении частота встречаемости лейкоцитов с микроядрами оказалась статистически значимо выше ($P < 0.05$), чем в первом, втором и третьем поколениях животных, рожденных в зоне повышенного радионуклидного загрязнения, однако, эта характеристика и в третьем поколении оказалась значимо ниже ($P < 0.01$), чем во втором. Частота встречаемости в мазках периферической крови двуядерных лейкоцитов также достоверно выше в родительском поколении, чем в первом и во втором поколениях животных. То есть радиорезистентность животных, родившихся в условиях повышенного ионизирующего излучения, возрастает в ряду поколений, о чем свидетельствует частота цитогенетических аномалий в мазках периферической крови. Не выявлено носителей робертсоновских транслокаций, которые нередко находят в «чистых» зонах у представителей видов с акроцентрическими аутосомами.

Сравнительный анализ по комплексу молекулярно-генетических маркеров экспериментального стада с черно-пестрым голштиinizированным скотом из относительно «чистых» зон разведения, а также с представителями древней примитивной породы, серой украинской, позволил увидеть сближение гене-

тической структуры животных экспериментального стада, родившихся в условиях повышенного уровня радионуклидного облучения, с генофондом этой древней породы, в отличие от родительской группы особей. Такой сдвиг генетической структуры генофонда экспериментального стада «Новошепеличи», исходно принадлежащего специализированной молочной породе, в сторону более примитивной породы наблюдался по аллельным вариантам структурных генов и по фрагментам ДНК, фланкированным инвертированными микросателлитными повторами. Можно ожидать, что такие изменения являются универсальным популяционно-генетическим ответом крупного рогатого скота на действие разных факторов экологического стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общими для полученных нами и опубликованных данных являются следующие. Главная проблема для популяций разных видов, в том числе и человека, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами после аварии на Чернобыльской АЭС, заключается не в абсолютной величине доз ионизирующего облучения, а в новизне для них этих доз. Главные генетические последствия для популяций разных видов заключаются не в увеличении количества мутантных организмов, а в том, что часть генов уходит из их воспроизводства, вследствие селекции против «радиочувствительных» организмов. То есть не появляются новые гены, а уходят «старые», связанные с повышенной «чувствительностью» организмов к новым условиям воспроизводства. Имеются косвенные данные, согласно которым более приспособленными к новым условиям внутри вида оказываются наименее специализированные особи.

Такая «реверсия» к более примитивным, онтогенетически и эволюционно более ранним формам наблюдается на разных уровнях организации биологического материала: сдвиг органоспецифичных изоферментных спектров к онтогенетически более ранним вариантам; смещение популяционно-генетической структуры в поколениях к преобладанию менее специализированных форм; облучение *in utero* привело у молодых людей к снижению IQ только вербального варианта [41], эволюционно более позднего приобретения у человека по сравнению с невербальным IQ, основанным на более древних структурах. Реальные генетические последствия чернобыльской катастрофы для популяций человека будут известны еще не скоро, поскольку только сейчас дети, родившиеся после 1986 года, вступают в репродуктивный период.

Интересно отметить, что в настоящее время получены данные, свидетельствующие о том, что перво-

очередное разрушение эволюционно самых молодых биологических систем является достаточно общим биологическим правилом [75].

Накопленные данные позволяют сформулировать четыре основных закона Чернобыля, которые, по нашему мнению, могут оказаться универсальными для последствий всех глубоких экологических изменений, связанных с природными и техногенными катастрофами и кризисами. Эти законы следующие: 1) после Чернобыля рождаются не все, кто должен был бы родиться; 2) после Чернобыля идет отбор против специализированных форм и преимущественное воспроизводство менее специализированных, но обладающих более высокой устойчивостью к дей-

ствию неблагоприятных средовых факторов; 3) ответ на одни и те же дозы ионизирующего облучения зависит от ее «новизны» для популяции, предшествующего отбора у предковых поколений на устойчивость к таким дозам; 4) реальные последствия чернобыльской аварии для популяций человека будут доступны для анализа не ранее чем через 20 лет, поскольку поколение, попавшее под прямое повреждающее воздействие аварии, только в последние годы вступило в репродуктивный период. Следует обратить внимание на то, что увеличение частоты встречаемости даже патологии щитовидной железы вследствие чернобыльской аварии снижает вероятность репродуктивного успеха у ее носителей. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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 // ДАН. 1992. Т. 325. С. 1058–1061.
2. Гилева Э.А. Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 1997. 105 с.
3. Дмитриев С.Г. // Экология. 1997. № 6. С. 447–451.
4. Дмитриев С.Г. // Генетика. 1997. Т. 33. № 11. С. 1589–1592.
5. Крюков В.Н., Толстой В.А., Долгопалова Г.В., Каневская К.Т. // Экология. 1995. № 2. С. 169–171.
6. Wood R.D., Mitchell M., Lindahl T. // Mutat. Res. 2005. V. 577. P. 275–283.
7. Ciciarello M., Lavia P. // EMBO Repts. 2005. V. 6. № 8. P. 714–716.
8. Farina A.R., Tacconelli A., Cappabianca L. // Mol. Cell. Biol. 2009. V. 29. № 17. P. 4812–4830.
9. Ame J.-C., Fouquerel E., Laurent R., Gauthier L.R. // J. Cell Sci. 2009. V. 122. № 12. P. 1990–2002.
10. Gisselsson D., Hakanson U., Stoller P. // PLoS ONE. 2008. V. 3. № 4. e1871.
11. Schoeftner S., Blasco M.A. // Semin. Cell Devel. Biol. 2010. V. 21. P. 186–193.
12. Begus-Nahrman Y., Hartmann D., Kraus J. // J. Clin Invest. 2012. V. 122. № 6. P. 2283–2288.
13. Greaves M., Maley C.C. // Nature. 2012. V. 481. № 7381. P. 287–294.
14. Schuster-Bockler B., Lehner B. // Nature. 2012. V. 488. № 7412. P. 504–507.
15. Drake J.W., Charlesworth B., Charlesworth D., Crow J.F. // Genetics. 1998. V. 148. P. 1667–1686.
16. Roach J.C., Glusman G., Smit A.F.A. // Science. 2010. V. 328. P. 636–639.
17. Marnett L.J., Plastaras J.P. // Trends Genet. 2001. V. 17. № 4. P. 214–221.
18. Memisoglu A., Samson L. // Mutat. Res. 2000. V. 451. P. 39–51.
19. Nakamura J., Walker V.E., Upton P.B., Chiang S.Y., Kow Y.W., Swenberg J.A. // Cancer Res. 1998. V. 58. № 2. P. 222–225.
20. Nair J., Carmichael P.L., Fernando R.C., Phillips D.H., Strain A.J., Bartsch H. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1998. V. 7. № 5. P. 435–440.
21. Nair J., Furstenberger G., Burger F., Marks F., Bartsch H. // Chem. Res. Toxicol. 2000. V. 13. № 8. P. 703–709.
22. Haber J.E. // Trends Biochem. Sci. 1999. V. 24. P. 271–275.
23. Battista J.R., Earl A.M., Park M.-J. // Trends Microbiol. 1999. V. 7. № 9. P. 362–365.
24. Ильинских Н.Н. // Генетика. 1988. Т. 24. № 3. С. 156–162.
25. Столина М.Р., Глазко Т.Т., Соломко А.П., Малюта С.С., Глазко В.И. // Докл. НАН Украины. 1993. № 6. С. 93–98.
26. Mousseau T.A., Nelson N., Shestopalov V. // Nature. 2005. V. 437. P. 1089.
27. Гилева Э.А., Любашевский М.Н., Стариченко В.И., Чибиряк М.В., Романов Г.Н. // Генетика. 1996. Т. 32. № 1. С. 114–119.
28. Пилинская М.А. // Межд. журн. радиационной мед. 1999. № 2. С. 60–66.
29. Богданов И.М., Сорокина М.А., Маслюк А.И. // Бюлл. сибирской медицины. 2005. № 2. С. 145–151.
30. Busby C., Lengfelder E., Pflugbeil S., Schmitz-Feuerhake I. // Med. Confl. Surviv. 2009. V. 25. № 1. P. 20–40.
31. Little M.P. // J. Radiol. Prot. 2009. V. 29. № 2A. P. A43–59.
32. Little M.P. // Mutat. Res. 2010. V. 687. № 1–2. P. 17–27.
33. Busby C.C. // Int. J. Environ. Res. Publ. Hlth. 2009. V. 6. P. 3105–3114.
34. Noshchenko A.G., Bondar O.Y., Drozdova V.D. // Int. J. Cancer. 2010. V. 127. P. 412–426.
35. Cardis E., Krewski D., Boniolet M. // Int. J. Cancer. 2006. V. 119. P. 1224–1235.
36. Liaginskaia A.M., Tukov A.R., Osipov V.A., Ermalitskiĭ A.P., Prokhorova O.N. // Radiats Biol. Radioecol. 2009. V. 49. № 6. P. 694–702.
37. Лазюк Г.И., Зацепин И.О., Кравчук Ж.П., Хмель Р.Д. Радиационный мониторинг жителей и их продуктов питания в Чернобыльской зоне Беларуси. Минск: Информ. бюлл. 2003. № 24. С. 41–42.
38. Hildebrandt G. // Mutat. Res. 2010. V. 687. № 1–2. P. 73–77.
39. Scherb H., Voigt R. // Environmetrics. 2009. V. 20. P. 596–606.
40. Scherb H., Weigelt E. // Environ. Sci. Pollut. Res. 2003. Special Issue 1. P. 117–125.
41. Heiervang K.S., Mednick S., Sundet K., Rund B.R. // Scand. J. Psychol. 2010. V. 51. № 3. P. 210–215.
42. Kale R.K. // Ind. J. Exp. Biol. 2003. V. 41. № 2. P. 105–111.
43. Lee H.C., Kim D.W., Jung K.Y. // Int. J. Mol. Med. 2004. V. 13. № 6. P. 883–887.
44. Samper E., Nicholls D.G., Melov S. // Aging Cell. 2003. V. 2. P. 277–285.
45. Pirzio L.M., Freulet-Marriere M.A., Bai Y. // Cytogenet.

- Genome Res. 2004. V. 104. № 1–4. P. 87–94.
46. Gutierrez-Enriquez S., Fernet M., Dork T. // *Genes Chromosomes Cancer*. 2004. V. 40. № 2. P. 109–119.
47. Rothkamm K., Lobrich M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. № 9. P. 5057–5062.
48. Gasser S., Orsulic S., Brown E.J., Raulet D.H. // *Nature*. 2005. V. 436. № 7054. P. 1186–1190.
49. Глазко Т.Т., Архипов Н.П., Глазко В.И. Популяционно-генетические последствия экологических катастроф на примере чернобыльской аварии. М.: ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2008. 556 с.
50. Настюкова В.В., Степанова Е.И., Глазко В.И. // *Докл. НАН Украины*. 2002. № 11. С. 178–183.
51. Настюкова В.В., Степанова Е.И., Глазко В.И. // *Цитология и генетика*. 2002. Т. 6. С. 45–52.
52. Вейнберг Г.Ш., Король А., Нево Е., Шапиро С., Реннерт Г. // *Межд. журн. радиационной мед.* 1999. Т. 2. № 2. С. 67–70.
53. Дуброва Ю.Е., Пламб М., Браун Дж., Джеффрейз А.Дж. // *Межд. журн. радиационной мед.* 1999. Т. 1. № 1. С. 90–100.
54. Pluth J.M., Nelson D.O., Ramsey M.J., Tucker J.D. // *Pharmacogenetics*. 2000. V. 10. № 4. P. 311–319.
55. Zusterzeel P.L., Nelen W.L., Roelofs H.M. // *Mol. Hum. Reprod.* 2000. V. 6. № 5. P. 474–478.
56. Schwartz J.L. // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000. V. 11. № 1. P. 92–122.
57. Beckman L., Nordenson I. // *Hum. Hered.* 1988. V. 38. № 1. P. 56–58.
58. Тельнов В.И., Вологодская И.А., Жунтова Г.В. // *Генетика*. 1995. Т. 31. № 5. С. 715–721.
59. Hayashi T., Kusunoki Y., Seyama T. // *Health Phys.* 1997. V. 73. № 5. P. 779–786.
60. Шмальгаузен И.И. Избранные труды: Пути и закономерности эволюционного процесса. М.: Наука, 1983. 360 с.
61. Garnier-Gere P., Dillmann C. // *J. Heredity*. 1992. V. 83. № 3. P. 239.
62. Eggen E., Fries R. // *Animal Genet.* 1995. V. 26. P. 215–236.
63. Глазко В.И. // *Изв. ТСХА*. 2007. Вып. 5. С. 142–148.
64. Gopal A.A. // *Ind. J. Exp. Biol.* 1970. № 8. P. 313–318.
65. Luxin W. // *J. Radiat. Res.* 1981. V. 22. № 1. P. 88–100.
66. Freire-Maja N. // *Ciência e Cultura*. 1977. V. 30. № 2. P. 385–395.
67. Ghiassi-Nejad M., Mortazavi S.M., Cameron J.R., Niroomand-rad A., Karam P.A. // *Health Phys.* 2002. V. 82. № 1. P. 87–93.
68. Tao Z., Zha Y., Akiba S. // *J. Radiat. Res. (Tokyo)*. 2000. V. 41. Suppl. P. 31–41.
69. Zhang W., Wang C., Chen D. // *J. Radiat. Res. (Tokyo)*. 2003. V. 44. № 1. P. 69–74.
70. Jaikrishan G., Andrews V.J., Thampi M.V. // *Radiat. Res.* 1999. V. 152. Suppl. 6. S 149–153.
71. Nair M.K., Nambi K.S., Amma N.S. // *Radiat. Res.* 1999. V. 152. Suppl. 6. S 145–148.
72. Nambi K.S., Soman S.D. // *Health Phys.* 1987. V. 52. № 5. P. 653–657.
73. Masse R. // *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences*. 2000. Ser. III. V. 323. № 7. P. 633–640.
74. Glazko T.T., Stolpovsky Yu.A. Genetically and environment components of micronuclei test. In: *Book of Abstracts of XXIVth Genetic Days, Brno, Czech Republic, 1–3 September, 2010. Brno, State University of Gregor Mendel's name, 2010.* P. 20.
75. Sansom R.S., Gabbott S.E., Purnell M.A. // *Proc. R. Soc. B.* 2010. e-publishing: rspb.royalsocietypublishing.org.