

© А. В. Мейер¹, Т. А. Толочко¹,
В. И. Минина², А. А. Тимофеева²

¹ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет;

²ФГУН Институт экологии человека Сибирского отделения Российской академии наук, Кемерово

✿ **Обследовано 318 детей и подростков (174 мальчика; 144 девочки), экспонированных радоном в бытовых условиях и 65 человек (23 мальчика; 42 девочки) группы сравнения. С использованием микроядерного теста в клетках буккального эпителия установлено значимое увеличение частот выявления клеток с цитогенетическими и пролиферативными аномалиями в группе экспонированной радоном. Исследованы ассоциации полиморфизма генов *NBS1* (rs1805794), *ATM* (rs1801516), *ADPRT* (rs1136410) с уровнем кариологических нарушений буккальных эпителиоцитов. Для экспонированной группы установлена ассоциация полиморфизма *NBS1* Glu185Gln с повышением частот выявления протрузий типа «разбитое яйцо» и апоптозных тел. Носительство генотипа *NBS1* 185Glu/Gln & *ATM* 1853Asp/Asp характеризуется повышенным уровнем цитогенетических повреждений, а аллельный вариант *NBS1* 185Glu/Glu & *ATM* 1853Asp/Asp носит протективный характер. В контрольной группе значимых ассоциаций не выявлено.**

✿ **Ключевые слова:** микроядерный тест; буккальные эпителиоциты; ионизирующее излучение; радон; гены репарации ДНК.

Поступила в редакцию 03.06.2013
Принята к публикации 20.02.2014

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК НА КАРИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ РАДОНОМ

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы существенно возрос интерес к экогенетическим и биомедицинским проблемам, связанным с воздействием на население радона и дочерних продуктов его распада в бытовых условиях. При средней суммарной дозе облучения человека в 3,46 мЗв/год, на долю изотопов радона приходится 2,12 мЗв/год (Онищенко, 2008), что составляет 50–60 % от естественных радиационных источников (Уткин, 2000). Радон — химически инертен, но ионизированные продукты его распада (радионуклиды полония, висмута, свинца) сорбируются пылью и влагой, образуя α-радиоактивные аэрозольные частицы (Рихванов, 2009). Наиболее опасны аэрозоли субмикронных размеров, которые могут оседать в верхних дыхательных путях, ротовой полости, создавая локальные источники α-облучения клеток. По данным Hei et al. (1997), до 80 % клеток эпителия выживают после попадания α-частиц, при этом фракция этих клеток характеризуется повышенной частотой мутаций и может являться источником возникновения злокачественных новообразований. Вклад радона в смертность от рака легких в странах Европы оценивается в 9 % (Darby et al., 2005), а в Канаде данный показатель составляет 10 % (Copes et al., 2007).

Основными препятствиями оценки генотоксических эффектов облучения от радона в бытовых условиях являются его низкая концентрация в помещениях, трудности формирования выборки лиц, подвергающихся воздействию одинаковой интенсивности, возможное влияние возраста, хронических патологий, профессиональных факторов, особенностей питания и вредных привычек (Oestreicher et al., 2004). Данная проблема может быть решена при формировании обследованных групп из детей и подростков, проживающих в детских домах и интернатах.

Не менее важной задачей при проведении экогенетических исследований является подбор адекватных методов. В настоящее время для оценки мутагенного воздействия факторов внешней среды, в том числе и радиационной природы, широко используются метод учета хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови (Hamza et al., 2009; Голуб и др., 2010; Мельнов и др., 2008), микроядерный тест в культурах лимфоцитов с цитокинетическим блоком (Пелевина и др., 2010), метод флуорисцентной гибридизации *in situ* (FISH) (Tawn, 2006; Oestreicher et al., 2004; Тимошевский и др., 2010), а также метод комет (Comet-assay) (Hellman et al., 1999). Вышеперечисленные методы характеризуются высокой точностью, но требуют инвазии и являются дорогостоящими. Для скрининговых исследований наиболее подходящим является микроядерный тест в буккальных эпителиоцитах. Использование для биоиндикационных исследований клеток буккального эпителия имеет ряд преимуществ, так как они подвергаются непосредственному воздействию атмосферных аэрозолей, кариологические повреждения и нарушения пролиферации, происходящие в клетках базального слоя, можно наблюдать во внешних слоях клеток, кроме того, их получение не требует инвазии и максимально безопасно. Развернутый микроядерный тест позволяет выявить генотоксические, пролиферативные эффекты, а также определить приоритетные механиз-

Таблица 1

Половозрастная структура обследованных групп

Обследуемые группы	Мальчики	Девочки	Средний возраст, лет, $(M \pm m) \mu \pm s$
Экспонированная радоном	174	144	12,30 \pm 0,16
Контрольная	23	42	15,32 \pm 0,30

M — среднее значение, *m* — ст. ошибка средней

мы гибели клеток (некроз/апоптоз) под воздействием факторов внешней среды, в том числе и ионизирующего излучения (Сычева и др., 2013).

Прямые и опосредованные последствия воздействия ионизирующей радиации во многом определяются индивидуальными конститутивными особенностями. Одним из факторов дифференциальной радиочувствительности человека является функциональная активность ферментов репарации ДНК, обусловленная полиморфизмом соответствующих генов (Гончарова, 2003). Поэтому для более корректной оценки гено- и цитотоксических эффектов от воздействия ионизирующей радиации следует учитывать индивидуальные генотипические особенности.

При проведении генетического и экологического мониторинга на территориях Кемеровской области сотрудниками кафедры генетики КемГУ была выявлена группа детей и подростков, проживающих и обучающихся в школе-интернате г. Таштагол, в воздухе жилых и учебных помещений которого стабильно регистрируются сверхнормативные концентрации радона; показатель эквивалентной равновесной объемной активности радона составляет 314,4 Бк/м³ при допустимом значении 200 Бк/м³ (Нормы радиационной безопасности, 2009). Для данной когорты установлены кластогенные эффекты воздействия радона, выражающиеся в повышенной частоте хромосомных aberrаций относительно групп, проживающих в районах с нормальной по радиационным параметрам обстановкой (Дружинин и др., 2010).

Целью настоящей работы является оценка воздействия повышенных доз радона в бытовых условиях на гено-, цитотоксические и пролиферативные показатели буккальных эпителиоцитов с учетом носительства различных вариантов генов репарации ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовано две группы детей и подростков из различных по радиационной обстановке районов Кемеровской области. Экспонированная радоном группа сформирована из 318 воспитанников школы-интерната № 3 г. Таштагол, обследование которых проводилось в течение 4 лет. Контрольная выборка включила 65 детей и подростков, проживающих в сельских населенных пунктах в условиях отсутствия выраженно-

го загрязнения окружающей среды по радиационным и химическим показателям: с. Красное Ленинск-Кузнецкого района и с. Пача Яшкинского района. Все экспедиционные выезды осуществлялись в зимний период. Половозрастная структура обследованных выборок представлена в таблице 1.

Сбор анамнестических данных проводили путем устного анкетирования и анализа медицинских карт (форма 025/у-87). Учитывали наличие хронических и инфекционных заболеваний, курения, прием лекарственных препаратов, рентгенодиагностические процедуры за 3 месяца до сбора материала. На момент обследования все индивиды были практически здоровы.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови, и препараты буккального эпителия. Забор биологического материала производился после подписания родителями либо лицами, осуществляющими опеку несовершеннолетних, формы информированного согласия.

Цитогенетический анализ

Приготовление цитогенетических препаратов осуществляли с учетом рекомендаций Thomas et al. (2009). Перед взятием образцов буккального эпителия обследуемые тщательно ополаскивали рот очищенной питьевой водой. Сбор материала проводили смоченным в буферном растворе (Tris HCl, EDTA, NaCl, pH = 7) шпателем. После трехкратной промывки клетки раскапывали на предварительно отмытые и подогретые предметные стекла. Препараты фиксировали фиксатором Кларка, окрашивание проводили 2,5%-м раствором ацетоорсеина и 1%-м спиртовым раствором светлого зеленого. Анализ препаратов проводили на микроскопе Nikon E200 при увеличении 100 \times 1,5 \times 10.

На препаратах учитывали 12 кариологических показателей (рис. 1). Идентификацию микроядер (МЯ) проводили с помощью классических критериев (Tolbert et al., 1992). Регистрацию таких ядерных аномалий, как двуядерность, конденсированный хроматин, пикноз, кариорексис, кариолизис, протрузии типа «пузырек», «разбитое яйцо», «язык», ядра с центральной круговой насечкой, ядра с перинуклеарными и ядерными вакуолями, ядра атипичной формы и клет-

ки с апоптозными телами осуществляли с учетом рекомендаций Сычевой Л. П. (Сычева, 2007). Частоту клеток с МЯ, протрузиями ядра, ядром атипичной формы, с двумя ядрами, с круговой насечкой, перинуклеарными и ядерными вакуолями выражали в промилле (‰). Клетки с конденсацией хроматина в ядре, кариорексисом, кариопикнозом, кариолизисом и апоптозными телами являются не подходящими для учета МЯ, поэтому их частоту выражали как число клеток, найденных сверх 1000.

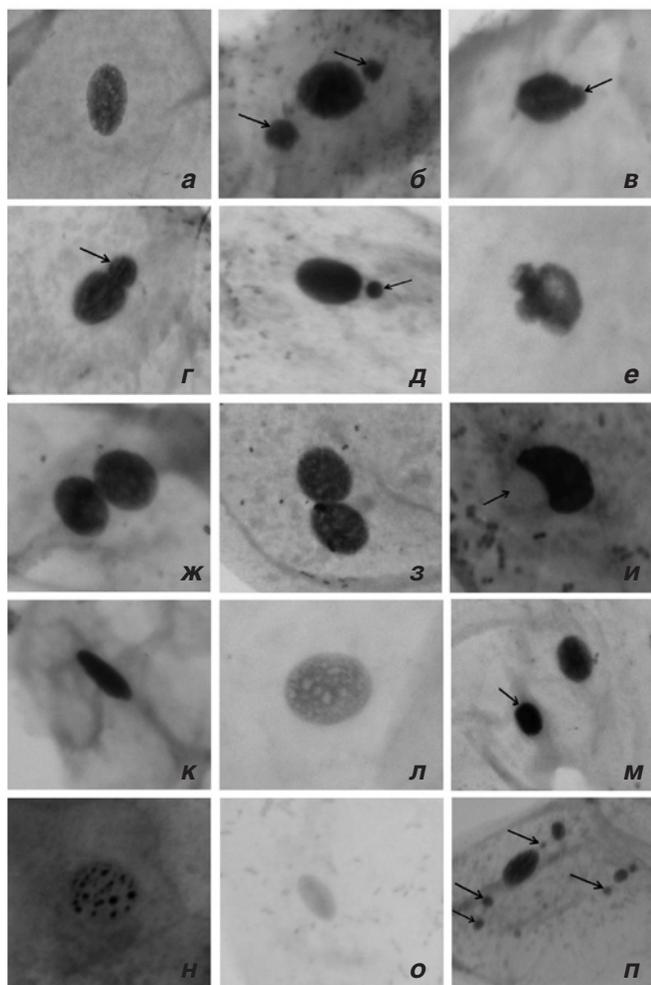


Рис. 1. Кариологические показатели буккального эпителия. а — буккальный эпителиоцит в норме; б — клетка с двумя микроядрами (указано стрелкой); в — клетка с протрузией типа «пузырек» (указано стрелкой); г — клетка с протрузией типа «язык» (указано стрелкой); д — клетка с протрузией типа «разбитое яйцо» (указано стрелкой); е — клетка с атипичной формой ядра; ж — клетка с двумя изолированными ядрами; з — клетка с круговой насечкой; и — клетка с перинуклеарной вакуолью (указано стрелкой); к — клетка с конденсацией хроматина; л — клетка с вакуолизацией ядра; м — клетка с кариопикнозом; н — клетка с кариорексисом; о — клетка с кариолизисом; п — клетка с апоптозными телами (указано стрелкой)

Молекулярно-генетический анализ

Для анализа полиморфизма генов *NBS1* Glu185Gln, *ATM* Asp1853Asp и *ADPRT* Val762Ala ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом «ДНК-экспресс». Типирование аллельных вариантов генов репарации ДНК осуществляли с использованием аллель-специфической ПЦР и набора реагентов «SNP-экспресс», разработанного НПФ «Литех» (г. Москва) (Руководство по применению диагностических наборов..., 2012). Продукты амплификации выявляли электрофоретическим методом в 3%-м агарозном геле, визуализацию и документирование полученных результатов проводили с использованием трансиллюминатора Vilber Lourmat ECX-15.M и видеосистемы Gel Imager 2 производства ООО «Компания Хеликон».

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statsoft Statistica 6.0. Достоверность отличий количественных показателей микроядерного теста между группами оценивали с использованием U-критерия Манна–Уитни (Закс, 1976, С. 270), различия считали значимыми при $p < 0,05$. Соответствие частот распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга определяли с помощью критерия χ^2 (Вейр, 1995, С. 87). Сравнение характеристик распределения частот генотипов в опытной и контрольной группах проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона (Лакин, 1980, С. 126). При расчете с помощью U-теста Манна–Уитни ассоциаций различных генотипов генов репарации ДНК и их сочетаний с кариологическими показателями буккального эпителия использовалась FDR поправка уровня значимости (p) для множественных сравнений (Benjamini, Yekutieli, 2001, P. 1165).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенного анализа кариологических показателей буккального эпителия в обследованных группах представлены в табл. 2.

Цитогенетические показатели

Микроядерный тест является чувствительным к воздействию веществ различной природы, в том числе и радиационной (Беляева и др., 2007). Отмечено двукратное превышение частоты встречаемости микроядер в экспонированной группе относительно контрольной выборки ($p = 0,003$). Дифференцированный анализ встречаемости протрузий показал достоверное превышение доли клеток с протрузией типа «язык» в 2 раза ($p = 0,048$), типа «пузырек» в 2,5 раза ($p < 0,001$). Интегральные показатели цитогенетических нарушений (суммарная частота протрузий и цитогенетических нарушений) в экспонированной группе в 2,5 раза превысили соответствующие значения от-

Таблица 2

Средние значения ($M \pm m$) и пределы варьирования (в скобках) кариологических показателей буккальных эпителицитов обследованных из экспонированной радоном и контрольной групп

Показатели, ‰	Экспозиция радоном (n = 318)	Контроль (n = 65)
<i>Цитогенетические показатели</i>		
Частота клеток с микроядрами	0,79 ± 0,07 (0–8)*	0,42 ± 0,11 (0–6)
Частота клеток с протрузиями	3,80 ± 0,18 (0–24)*	1,68 ± 0,22 (0–10)
Частота клеток с протрузиями типа «разбитое яйцо»	0,12 ± 0,02 (0–3)*	0,20 ± 0,05 (0–2)
Частота клеток с протрузиями типа «язык»	0,28 ± 0,03 (0–3)*	0,14 ± 0,05 (0–2)
Частота клеток с протрузиями типа «пузырек»	3,42 ± 0,18 (0–24)*	1,34 ± 0,19 (0–10)
Суммарная частота цитогенетических повреждений	4,74 ± 0,2 (0–25) *	2,14 ± 0,30 (0–17)
Частота клеток с ядром атипичной формы	17,58 ± 0,51 (0–61)*	22,71 ± 1,41 (3–53)
<i>Показатели пролиферации</i>		
Частота клеток с двумя ядрами	2,95 ± 0,15 (0–12)*	1,48 ± 0,25 (0–14)
Частота клеток с круговой насечкой	5,48 ± 0,23 (0–28)*	3,57 ± 0,38 (0–16)
Суммарная частота	8,51 ± 0,33 (0–31) *	5,05 ± 0,47 (0–19)
<i>Показатели ранней стадии деструкции ядра (апоптоза/некроза)</i>		
Частота клеток с перинуклеарной вакуолью	20,88 ± 1,11 (0–168)	18,40 ± 2,45 (1–105)
Частота клеток с конденсацией хроматина	77,36 ± 3,43 (1–353)*	139,74 ± 8,57 (41–350)
Частота клеток с вакуолизацией ядра	26,91 ± 1,77 (0–182)*	4,63 ± 1,09 (0–60)
<i>Показатели завершения деструкции ядра (апоптоза/некроза)</i>		
Частота клеток с кариорексисом	2,59 ± 0,28 (0–46)	3,43 ± 0,77 (0–27)
Частота клеток с кариопикнозом	10,17 ± 0,65 (0–71)*	4,11 ± 0,49 (0–19)
Частота клеток с кариолизисом	182,98 ± 6,92 (12–735)*	251,98 ± 22,65 (11–821)
Частота клеток с апоптозными телами	0,47 ± 0,05 (0–7)*	0,12 ± 0,04 (0–1)

* — различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$, U-критерий Манна–Уитни)

носителем группы сравнения ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). Для контрольной выборки отмечено превышение по частоте встречаемости клеток с протрузией типа «разбитое яйцо» ($p = 0,039$) и с атипичной формой ядра ($p < 0,001$) (табл. 2).

Показатели нарушения пролиферации

Для группы экспонированной радоном установлено статистически достоверное двукратное увеличение средней частоты выявления двуядерных клеток ($p < 0,001$), клеток со сдвоенными ядрами в 1,5 раза ($p < 0,001$) и интегрального показателя пролиферации в 1,5 раза ($p < 0,001$) (табл. 2).

Показатели деструкции ядра

Анализ показателей деструкции ядра у обследованных экспонированной группы показал 5-кратное превышение по частоте клеток с вакуолизацией ядра ($p < 0,001$), 4-кратное по частоте выявления апоптозных тел ($p = 0,001$) и почти 3-кратное по встречаемости клеток с кариопикнозом ($p < 0,001$) в опытной группе в сравнении с контрольной. Для контрольной группы установлено значимое превышение по частоте встречаемости клеток с конденсацией хроматина ($p < 0,001$) и лизисом ядра ($p = 0,008$) относительно экспонированной группы (табл. 2).

Проведено молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов кандидатных генов радиочувствительности: *NBS1* (rs1805794), *ATM* (rs1801516), *ADPRT* (rs1136410). Частоты генотипов и аллелей изученных генов в обследованных группах представлены в таблице 3. Между опытной и контрольной группами установлены отличия характеристик распределения генотипов по гену *ADPRT* ($X^2 = 7,314$, $p = 0,0258$).

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей изученных генов в экспонированной радоном и контрольной группах

Группы	Генотипы (% ± m)			Аллели	
	Glu/Glu	Glu/Gln	Gln/Gln	Glu	Gln
<i>NBS1 Glu185Gln</i>					
Экспозиция	40,98±4,71	45,49±4,53	13,53±5,70	0,6372	0,3628
Контроль	54,17±9,77	35,42±11,59	10,42±13,66	0,7188	0,2812
<i>ATM Asp1853Asn</i>					
	Asp/Asp	Asp/Asn	Asn/Asn	Asp	Asn
Экспозиция	87,82±1,98	11,54±5,33	0,64±5,64	0,9359	0,0641
Контроль	85,25±4,92	13,11±11,93	1,64±12,70	0,9180	0,0819
<i>ADPRT Val762Ala</i>					
	Val/Val	Val/Ala	Ala/Ala	Val	Ala
Экспозиция	38,73±4,41	43,81±4,22	17,46±5,12	0,6063	0,3937
Контроль	54,55±9,09	40,00±10,44	5,45±13,11	0,7455	0,2545

Таблица 4

Частоты кариологических показателей в зависимости от генотипа обследованных экспонированной группы

Показатели	Генотипы		
	<i>ADPRT</i>		
	Val/Val (n = 122)	Val/Ala (n = 138)	Ala/Ala (n = 55)
Частота клеток с вакуолизацией ядра	34,42 ± 30,21 (0–177)	23,79 ± 2,53 (0–182)*	18,22 ± 2,94 (0–120)*
Частота клеток с кариопикнозом	12,0 ± 1,13 (0–54)	8,65 ± 0,94 (0–71)*	9,40 ± 1,37 (0–46)
	<i>NBS1</i>		
	Glu/Glu (n = 109)	Glu/Gln (n = 121)	Gln/Gln (n = 36)
Частота клеток с протрузиями типа «разбитое яйцо»	0,05 ± 0,02 (0–2)	0,19 ± 0,05 (0–3)*	0,08 ± 0,06 (0–2)
Частота клеток с апоптозными телами	0,31 ± 0,07 (0–4)	0,48 ± 0,09 (0–7)	0,75 ± 0,18 (0–5)*

* — статистически значимые отличия ($p < 0,01$) по сравнению с гомозиготным генотипом по мажорному аллелю

Модифицирующее влияние полиморфизма изученных генов установлено для цитогенетических показателей и показателей деструкции ядра. Значимые ассоциации полиморфизма изученных генов с частотами кариологических нарушений буккальных эпителиоцитов представлены в таблице 4.

Проведено исследование ассоциаций между различными вариантами парных сочетаний изученных генов и кариологическими показателями. Выявлены значимые отличия по суммарной частоте встречаемости протрузий у носителей различных аллельных вариантов сочетаний *NBS1&ATM* (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Современный протокол микроядерного теста включает учет микроядер как основного показателя генотоксичности, так как их образование связывают с ацентрическими фрагментами хромосом, почкованием ядер или нарушениями расхождения целых хромосом на стадиях анафазы митоза, а также с незавершенностью телофазы (Беляева и др., 2007). Ядерные протрузии типа

«язык», «разбитое яйцо» также являются маркерами нерепарируемых цитогенетических нарушений, так как их формирование обусловлено образованием ацентрических терминальных фрагментов хромосом, разрывом межъядерных мостов во время клеточного деления, почкованием ядер (Кузоватов, 2000). Образование же ядерных пузырьков связывают с удалением из клетки амплифицированной ДНК, элиминацией из ядра ДНК-репарационных комплексов (Sharma, 2005).

Полученные данные (табл. 2) свидетельствуют о том, что по всем изученным цитогенетическим показателям, за исключением протрузий «разбитое яйцо» и ядер атипичной формы средние значения в опытной группе статистически достоверно выше, чем в контрольной выборке. Анализ показателей нарушения пролиферации также установил превышение средних значений в экспонированной группе в сравнении с контрольной. В литературных источниках имеются данные о повышении частоты встречаемости двуядерных клеток в ответ на облучение (Koss, 1979), что подтверждается полученными нами результатами.

Среди показателей, отражающих деструктивные изменения ядер, наиболее изучены кариопикноз и кариорексис, повышение частоты встречаемости которых свидетельствует о генотоксическом воздействии различных факторов (Daniel, Olson, Stober, 1991). Кроме того, для некоторых агентов установлена более высокая чувствительность данных ядерных аномалий по сравнению с микроядрами (Tolbert et al., 1991; Torres-Bugarin et al., 1998). В нашем исследовании значимое превышение установлено по частоте выявления пикнотических ядер в опытной группе относительно контрольной ($p = 0,00005$). С высокой степенью значимости показано превышение частот выявления клеток с вакуолизацией ядра ($p < 0,001$) и апоптозными телами ($p = 0,001$) в опытной группе в сравнении с контрольной. Полученные результаты относительно таких

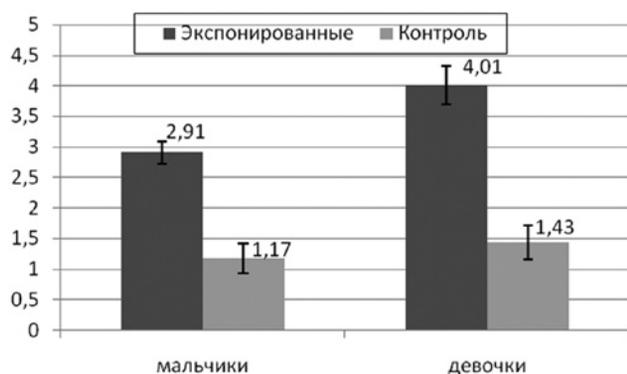


Рис. 2. Частоты выявления протрузий типа «пузырек» (%) в обследованных группах в зависимости от пола

показателей как конденсация хроматина и кариолизис свидетельствуют о значимом превышении средних значений для контрольной группы ($p = 0,008$ и $p < 0,001$ соответственно) (табл. 2). Важно отметить, что снижение интенсивности деструктивных изменений (конденсация хроматина, кариолизис) в клеточной популяции, характеризующейся повышенным уровнем цитогенетических повреждений, является наиболее неблагоприятным процессом, приводящим к накоплению генетически поврежденных клеток (Сычева, 2007).

Пределы варирования и средние значения выявления цитогенетических нарушений, показателей пролиферации буккальных эпителиоцитов в контрольной выборке практически совпадают с данными других авторов для детей и подростков, проживающих в относительно благоприятных экологических условиях (Юрченко и др., 2007; Бяхова и др., 2010; Сычева и др., 2010), что позволяет рассматривать полученные характеристики как фоновые для Кемеровской области.

Необходимо отметить, что сравнительный анализ средних значений цитогенетических, пролиферативных и показателей деструкции ядра за отдельные годы с данными для группы контроля выявил наличие статистически значимых отличий ($p < 0,005$) аналогичных для объединенной группы за четырехлетний период.

С целью оценки влияния возрастных особенностей на кариологические показатели реактивности буккальных эпителиоцитов в условиях экспозиции радоном исследуемую выборку подразделили на возрастные группы согласно возрастной периодизации (Хрисанова, 2002): «второй детский возраст» ($n = 151$), «подростки» ($n = 128$), «юноши» ($n = 39$). При сопоставлении средних значений анализируемых показателей статистически значимых отличий между возрастными группами не установлено ($p > 0,05$). Аналогичный результат получен при сравнении групп курящих ($n = 47$) и некурящих ($n = 271$) обследованных. В когорте экспонированной радоном гендерные отличия установлены при сопоставлении средних значений частот выявления ядерных пузырьков, соответствующие значения в группах девочек и мальчиков составили $4,01 \pm 0,31$ ‰ и $2,91 \pm 0,80$ ‰ ($p = 0,012$). В контрольной группе зависимости частоты данного показателя от пола не выявлено, а при сопоставлении средних значений анализируемого показателя в опыте и контроле с учетом пола, они в обоих случаях статистически достоверно выше оказались в группе экспонированной радоном (рис. 2), что свидетельствует о доминирующей роли влияния радона в формировании ядерных протрузий типа «пузырек».

Полученные в ходе кариологического анализа результаты, позволяют охарактеризовать экспонированную группу как группу повышенного цитогенетического риска, в связи с чем представляется актуальным

изучение полиморфизма генов репарации ДНК и их влияния на показатели цитогенетической нестабильности с использованием микроядерного теста.

Исследованию ассоциаций кариологических показателей с носительством различных вариантов генотипов предшествовало изучение характеристик распределения аллельных вариантов генов репарации ДНК в представленных группах (табл. 3). В исследуемых выборках отклонений частот распределения от равновесия Харди-Вайнберга по изученным генам не выявлено. При сопоставлении характеристик распределения генотипов опытной и контрольной группы с использованием критерия χ^2 показано, что в контрольной группе выше частоты носителей гомозиготного варианта по мажорному аллелю *ADPRT* Val762Val и ниже по минорному аллелю.

Продукт гена *ADPRT* является ключевым белком эксцизионной репарации оснований (BER), который специфически связывается с поврежденной цепью ДНК, обеспечивая присоединение *XRCC1* и *Lig3a* комплекса. Данный фермент также запускает реакции полимеризации АДФ-рибозы (Caldecott, 2003). Воздействие ионизирующей радиации индуцирует образование свободных радикалов и развитие энергодефицита в клетках оксидативного стресса (Зайчик, 2008). Установлено, что в таких условиях более высокую активность проявляет фермент *ADPRT*, имеющий Val в 762 положении, активность фермента снижается при замене валина на аланин (Lockett et al., 2004). При участии поли-АДФ-рибозилполимераз происходит превращение НАД в поли-АДФ-рибозу и повышенная активность фермента усугубляет оксидативный стресс, приводящий к энергодефициту. В условиях энергодефицита клетки вступают на путь апоптоза или некроза. В нашем исследовании установлено, что у гомозигот по мажорному аллелю статистически достоверно чаще выявляются клетки с вакуолизацией ядра, чем у гетерозигот ($p = 0,004$) и гомозигот по минорному аллелю ($p = 0,001$) (табл. 4). При этом следует отметить, что у носителей *ADPRT* Val/Val среднее значение характеризуемого показателя ($34,42 \pm 30,21$ ‰) относится к наиболее высоким в группе экспонированной радоном. Для носителей гомозиготного варианта по мажорному аллелю *ADPRT* показана также более высокая частота выявления клеток с пикнотическими ядрами по сравнению с гетерозиготами ($p = 0,004$) (табл. 4).

Начальным этапом распознавания повреждений в процессах репарации путем гомологичной рекомбинации и негомологичного слияния концов, служит MRN-комплекс (включающий белки MRE11, RAD50, нибрин), причем нибрин является ключевым регулятором этого комплекса (Kracker et al., 2005). Ген *NBS1* (Nijmegen breakage syndrome gene 1), локализованный на хромосоме 8q21, имеет протяженность около

50 тыс. п. н. и включает 16 экзонов. Анализируя влияние полиморфизма гена *NBS1* Glu185Gln на цитогенетические и кариологические показатели эксфолиативного эпителия в экспонированной группе установлено, что у гетерозигот *NBS1* 185 Glu/Gln статистически достоверно выше средние значения выявления клеток с ядерной протрузией типа «разбитое яйцо», которое относится к нерепарируемым повреждениям, в сравнении с гомозиготами по мажорному аллелю ($p = 0,006$), а у гомозигот по минорному аллелю более чем в 2 раза чаще обнаруживаются клетки с апоптозными телами, чем у гомозигот по мажорному аллелю ($p = 0,006$) (табл. 4). В работе Zheng et al. (2011) установлено, что данный полиморфизм ассоциирован с риском развития назофарингеального рака, что подтверждает более высокую подверженность цитогенетическим повреждениям эксфолиативного эпителия у носителей минорных аллелей.

Ген *ATM* (серин/треониновая протеинкиназа) протяженностью 150 т.п.н., локализован в хромосоме 11q22-q23 и кодирует состоящую из 66 экзонов протеинкиназу, которая относится к семейству фосфатидилинозитол-3-киназ и экспрессируется во многих тканях (Savitsky et al., 1995). *ATM* фосфорилирует ферменты большинства путей репарации ДНК (Shiloh, 2003). Белок в основном располагается в ядре в неактивной димерной форме, которая диссоциирует с образованием активных мономеров при возникновении двойных разрывов нитей ДНК (Bakkenist, 2003). Статистически значимых ассоциаций генотипов с частотой кариологических показателей буккального эпителия в экспонированной группе по данному гену обнаружено не было (табл. 4), что возможно связано с недостаточным количеством носителей минорных аллелей.

Учитывая взаимодействие продуктов генов *ATM* и *NBS1* в процессах репарации ДНК (Vanin et al., 1998), проведен анализ модифицирующего влияния парных сочетаний данных генов на кариологичес-

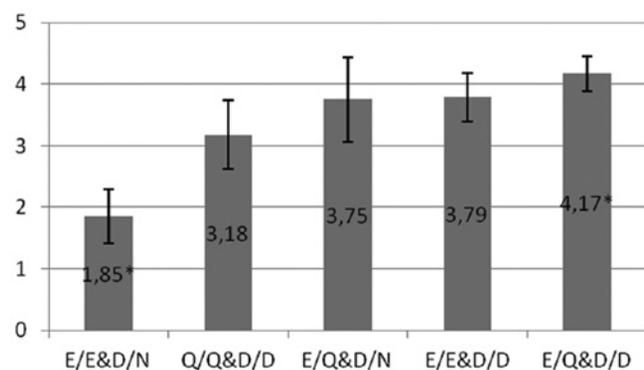


Рис. 3. Суммарные частоты встречаемости протрузий (%) у носителей различных аллельных вариантов сочетаний *NBS1* & *ATM*. E-Glu, Q-Gln, D-Asp, N-Asn (согласно номенклатуре аминокислот IUPAC-IUB); * — отличия между группами статистически значимы ($p = 0,004$)

кие показатели эксфолиативного эпителия, который позволил установить, что дифференцировка когорты экспонированной радоном по частотам выявления ядерных протрузий в буккальных эпителиоцитах обусловлена генетическим полиморфизмом не только гена *NBS1* в отдельности, но и в его сочетаниях с геном *ATM* (рис. 3). Так, у гомозигот по мажорному варианту аллелей *NBS1* 185 Glu/Glu в сочетании с гетерозиготностью по *ATM* 1853 Asp/Asp средние показатели суммарной частоты выявления ядерных протрузий ниже по сравнению с гетерозиготными вариантами *NBS1* 185 Glu/Gln и гомозиготами по мажорному аллелю *ATM* ($p = 0,004$). Сочетание гомозиготности по мажорному аллелю гена *NBS1* и гетерозиготности по локусу *ATM* можно рассматривать как протективный признак, так как в условиях воздействия ионизирующей радиации для выборки носителей данного генотипа установлено самое низкое значение суммарной частоты протрузий ($1,85 \pm 0,44$ %) (рис. 3), которое приближено к соответствующему значению в группе контроля (табл. 2). По остальным парным сочетаниям изученных SNP статистически значимых отличий не выявлено.

Необходимо отметить, что анализ модифицирующего влияния полиморфизма изученных генов в контрольной группе не выявил статистически значимых отличий ни по одному из показателей микроядерного теста. Такой результат, вероятно, свидетельствует о том, что в условиях отсутствия воздействия мутагенных факторов носительство инвариантных аллелей изученных генов не оказывает влияния на цитологический статус буккального эпителия.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что экспонированная радоном группа характеризуется значимым повышением уровня цитогенетических нарушений суммарно, а также отдельных показателей цитогенетической нестабильности в сравнении с контрольной выборкой. Увеличение частоты выявления двуядерных клеток и клеток со сдвоенными ядрами в условиях экспозиции радоном следует рассматривать как нарушение веретена деления и цитокинеза в стволовых клетках буккального эпителия. Полученные результаты свидетельствуют об адекватности использования микроядерного теста для оценки экогенетических последствий длительного воздействия излучения от радона.

Повышение частоты выявления клеток с ранней и поздней деструкцией ядра связано с носительством мажорных аллелей гена *ADPRT* Val762Ala. Показано, что полиморфизм *NBS1* Glu185Gln в условиях воздействия ионизирующей радиации ассоциирован с повышением частоты выявления протрузий типа «разбитое яйцо» и апоптозных тел. Цитогенетическим повреждениям клеток буккальных эпителиоцитов наиболее подвержены индивиды с генотипом *NBS1* 185Glu/Gln &

ATM 1853Asp/Asp, а носителей аллельного варианта NBS1 185Glu/Glu & ATM 1853Asp/Asp можно отнести к резистентной когорте.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 12-04-32218 «мол_а», № 13-06-98014 р-Сибирь-а, Соглашения № 19 с АКО и государственного задания Минобрнауки РФ № 2014/64.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева Н. Н., Журков В. С., Ингель Ф. И. и др. (2007) **Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях.** Под ред. Ю. А. Рахманина, Л. П. Сычевой. М.: Гениус. 312 с.
2. Бяхова М. М., Сычева Л. П., Журков В. С. и др. (2010) **Кариологические и иммунологические показатели у детей в условиях различного загрязнения атмосферного воздуха.** *Гигиена и санитария.* № 3: С. 9–11.
3. Вейр Б. (1995) **Анализ генетических данных.** Пер. с англ. М.: Мир. 400 с.
4. Голуб Е. В., Севаньяев А. В., Нугис В. Ю. (2010) **Результаты цитогенетического наблюдения в отдаленные сроки после облучения группы ликвидаторов с ОЛБ различной степени тяжести.** *Тезисы докладов VI съезд по радиационным исследованиям.* Москва; с. 101.
5. Гончарова И. А., Фрейдин М. Б., Тахауов Р. М. и др. (2003) **Молекулярно-генетические подходы, применяемые для оценки воздействия радиации на геном, и индивидуальная радиочувствительность человека.** *Сибирский медицинский журнал.* № 5. С. 78–83.
6. Дружинин В. Г., Алукер Н. Л., Ахальцева Л. В. и др. (2010) **Комплексный подход к оценке экологических факторов токсико-генетического риска у детей из Горной Шории.** *Гигиена и санитария.* № 3. С. 12–18.
7. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. (2008) **Общая патофизиология (с основами иммунопатологии).** Учебник для студентов медВУЗов. Издание 4-е. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 656 с.
8. Закс Л., 1976. **Статистическое оценивание.** М.: Статистика. 598 с.
9. Кузоватов С. Н., Кравцов В. Ю., Вахтин Ю. Б. (2000) **Межъядерные хромосомные мосты и ядра с протрузиями в клеточных популяциях рабдомиосаркомы RA-23 крыс.** *Цитология.* Т. 42 (11): С. 1097–1102.
10. Лакин Г. Ф. (1980) **Биометрия. Учебное пособие для биол. спец. Вузов.** 3-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. школа. 293 с.
11. Мельнов С. Б., Малиновская Ю. В. (2008) **Молекулярно-генетические механизмы формирования геномной нестабильности при низкодозовых воздействиях у человека.** *Молекулярная и прикладная генетика.* Т. 7: С. 148–156.
12. **Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009) (2009)** М.: Минздрав России, 72 с.
13. Онищенко Г. Г. (2008) **О состоянии контроля за радиационной безопасностью населения от природных источников ионизирующего излучения.** *Здоровье населения и среда обитания.* № 4: С. 9–11.
14. Пелевина И. И., Орадовская И. В., Мансурова Ю. Г. и др. (2010) **Связь молекулярно-клеточных показателей и иммунного статуса у лимфоцитов крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС.** *Радиационная генетика.* Т. 50 (5): С. 501–507.
15. Рихванов Л. П. (2009) **Радиоактивные элементы в окружающей среде и проблемы радиоэкологии: учебное пособие.** Томск: STT. 430 с.
16. **Руководство по применению диагностических наборов для выявления полиморфизмов в геноме человека методом ПЦР «SNP-Экспресс» (2012)** Литех. URL: http://www.lytech.ru/data/file/snp_express_manual_2012_10_03_ef.pdf.
17. Сычева Л. П. (2007) **Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека.** *Медицинская генетика.* № 11: С. 3–11.
18. Сычева Л. П., Журков В. С., Рахманин Ю. А. (2013) **Актуальные проблемы генетической токсикологии.** *Генетика.* Т. 49 (3): С. 293–302.
19. Сычева Л. П., Иванов С. И., Коваленко М. А. и др. (2010) **Цитогенетический статус детей, проживающих вблизи целлюлозно-бумажного комбината.** *Гигиена и санитария.* № 1: С. 7–10
20. Тимошевский В. А., Лебедев И. Н., Васильев С. А. и др. (2010) **Хромосомный и цитомный анализ соматических клеток работников радиохимического производства с инкорпорированным ²³⁹Pu.** *Радиационная генетика.* Т. 50 (6): С. 672–680.
21. Уткин В. И. (2000) **Газовое дыхание Земли.** *Соросовский образовательный журнал.* Т. 6 (3): С. 73–80.
22. Хрисанова Е. Н. (2002) **Антропология: Учебник.** 3-е изд. М.: Высш. шк. 400 с.
23. Юрченко В. В., Кривцова Е. К., Подольная М. А. и др. (2007) **Микроядерный тест эпителия щеки в комплексной оценке экологического благополучия детей в Москве.** *Гигиена и санитария.* № 6: С. 83–86.
24. Bakkenist C. J., Kastan M. B. (2003) **DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation.** *Science.* 299: 948–951.

- phorylation and dimer dissociation. *Nature*. V. 21: P. 499–506.
25. Banin S., Moyal L., Shieh S. et al. (1998) Enhanced phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science*. V. 281: P.1674–1677.
 26. Benjamini Y., Yekutieli D. (2001) The control of the False discovery rate in multiple testing under dependency. *Ann. Stat.* V. 29: P. 1165–1188.
 27. Caldecott K.W. (2003) XRCC1 and DNA strand break repair. *DNA Repair (Amst.)*. V. 2: P. 955–969.
 28. Copes R., Scott J. (2007) Radon exposure: Can we make a difference? *CMAJ*. V. 177 (10): P. 1229–1231.
 29. Daniel F.B., Olson G.R., Stober J. A. (1991) Induction of gastrointestinal tract nuclear anomalies in B6C3F1 mice by 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2 [5H]-furanone, mutagenic byproducts of chlorine disinfection. *Env. and Mol. Mutagenesis*. V. 17 (1): P. 32–39.
 30. Darby S., Hill D., Auvinen A. et al. (2005) Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. V. 330: P. 223–227.
 31. Hamza V.Z., Mohankumar M.N. (2009) Cytogenetic damage in human blood lymphocytes exposed in vitro to radon. *Mutat. Res.* V. 661: P. 1–9.
 32. Hei T.K., Wu L.-J., Liu S.-X. et al., 1997. Mutagenic effects of a single and an exact number of α particles in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 94: P.3765–3770.
 33. Hellman B., Friis L., Vaghef H. et al. (1999) Alkaline single cell gel electrophoresis and human biomonitoring for genotoxicity: a study on subjects with residential exposure to radon. *Mutat. Res.* V. 25. N 442(2): P. 121–132.
 34. Koss L. G. (1979) **Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases**. Philadelphia–Toronto: J. B. Lippincott Co. V. 1, 2: 1266 p.
 35. Kracker S., Bergmann Y., Demuth I. et al. (2005) Nibrin functions in Ig class-switch recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 102: P. 1584–1589.
 36. Lockett K.L., Hall M. C., Xu J. et al. (2004) The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. *Cancer Res.* V. 64: P. 6344–6348.
 37. Oestreicher U., Braselmann H., Stephan G. (2004) Cytogenetic analyses in peripheral lymphocytes of persons living in houses with increased levels of indoor radon concentrations. *Cytogenet. Genome Res.* V. 104 (1–4): P. 232–236.
 38. Savitsky K., Bar-Shira A., Gilad S et al. (1995) A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science*. V. 268: P.1749–1753.
 39. Sharma S.D., Igbal M. (2005) Lithium induced toxicity in rats: a hematological, biochemical and histopathological study. *Biol. Pharm. Bull.* V. 28:P. 843–847.
 40. Shiloh Y. (2003) ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nat. Rev. Cancer*. V. 3: P. 155–168.
 41. Tawn E.J., Whitehouse C.A., Riddell A.E. (2006) FISH chromosome analysis of plutonium workers from the Sellafield nuclear facility. *Radiation Research*. V. 165 (5): P. 592–597.
 42. Thomas P., Hollad N., Bolognesi C. et al. (2009) Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* V. 4: P. 825–837.
 43. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. (1991) Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am.J.Epid.* V. 134: P. 840–850.
 44. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. (1992) Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mut. Res.* V. 271: P. 69–77.
 45. Torres-Bugarin O., De Anda-Casillas A., Ramirez-Munoz M.P. et al. (1998) Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mut. Res.* V. 413: P. 277–281.
 46. Zheng J., Zhang C., Jiang L. et al. (2011) Functional NBS1 polymorphism is associated with occurrence and advanced disease status of nasopharyngeal carcinoma. *Mol. Carcinog.* V. 50 (9): P.689–696.

INFLUENCE OF DNA REPAIR GENES POLYMORPHISM ON KARYOLOGY OF BUCCAL EPITHELIUM CELLS IN HUMANS EXPOSED TO RADON

Meyer A. V., Tolochko T. A., Minina V. I., Timofeyeva A. A.

✿ **SUMMARY:** Were investigated samples from 318 children and adolescents (174 males, 144 females), who were exposed to radon at home, and 65 people (23 males, 42 females) in the control group. Using micronucleus test on buccal epithelial cells we identified a significant increase in the number of cells with cytogenetic and proliferative abnormalities in the exposed group. Were investigated the association NBS1 (rs1805794), ATM (rs1801516), ADPRT (rs1136410) genes polymorphism with karyological abnormalities in buccal epithelial cells. For the exposed group, an association of NBS1 Glu185Gln polymorphism with increasing frequency of identification of “broken egg”-type protrusions and apoptotic bodies was established. NBS1 185Glu/Gln & ATM1853Asp/Asp genotypes were associated with an elevated levels of cytogenetic damage, while the NBS1 185Glu/Glu & ATM 1853Asp/Asn allelic variant plays a protective role. In the control group, no significant associations were found.

✿ **KEY WORDS:** micronucleus test; buccal epithelial cells; ionizing radiation; radon; DNA repair genes.

* REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Bakkenist C. J., Kastan M. B. (2003) *Nature*. V. 21: P. 499–506.
2. Banin S., Moyal L., Shieh S. et al. (1998) *Science*. V. 281: P. 1674–1677.
3. Belyaeva N. N., Zhurkov V. S., Ingel F. I. et al. (2007) **Poliorgannnyi mikroiadernyi test v ekologigigienicheskikh issledovaniyakh [Polyorganic micronucleus test in ecological and hygienic studies]**. Iu. A. Rakhmanin, L. P. Sycheva, editor. M.: Genius.
4. Benjamini Y., Yekutieli D. (2001) *Ann. Stat.* V. 29: P. 1165–1188.
5. Biakhova M. M., Sycheva L. P., Zhurkov V. S. et al. (2010) **Kariologicheskie i immunologicheskie pokazateli u detey v usloviyakh razlichnogo zagriazneniya atmosfery vozdukh [Karyological and immunological parameters in children under conditions of varying ambient air pollution]**. *Gig Sanit.* № 3: P. 9–11.
6. Caldecott K. W. (2003) *DNA Repair (Amst.)*. V. 2: P. 955–969.
7. Copes R., Scott J. (2007) *CMAJ*. V. 177: P. 1229–1231.
8. Daniel F. B., Olson G. R., Stober (1991) *Env. and Mol. Mutagenesis*. V. 17: P. 32–39.
9. Darby S., Hill D., Auvinen A. et al. (2005) *BMJ*. V. 330: P. 223–227.
10. Druzhinin V. G., Aluker N. L., Akhaltseva L. V. et al. (2010) **Kompleksnyi podkhod k otsenke ekologicheskikh faktorov toksiko-geneticheskogo riska u detey iz Gornoy Shorii [Toxic and genetic risk assessments in children of Gornaya Shoria]**. *Gig Sanit.* № 3. P. 12–18.
11. Golub E. V., Sevankaev A. V., Nugis V. Iu. (2010) **Rezultaty tsitogeneticheskogo nabludeniya v otdalennye sroki posle oblucheniya gruppy likvidatorov s OLB razlichnoy stepeni tiazhesti [Late cytogenetic observations results after radiation exposure in liquidators group with varying severity of ARS]**. *Abstracts of VI Congress on Radiation Research*, Moscow.
12. Goncharova I. A., Freidin M. B., Takhauov R. M. et al. (2003) **Molekuliarno-geneticheskiye podkhody, primenyaemye dlya otsenki vozdeystviya radiatsii na genom, i individualnaya radiochuvstvitelnost cheloveka [Molecular genetics approaches used to assess the effects of radiation on the genome, and individual radiosensitivity of human]**. *Siberian medical journal.* № 5. P. 78–83.
13. Hamza V. Z., Mohankumar M. N. (2009) *Mutat. Res.* V. 661: P. 1–9.
14. Hei T. K., Wu L.-J., Liu S.-X. et al. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 94: P. 3765–3770.
15. Hellman B., Friis L., Vaghef H. et al. (1999) *Mutat. Res.* V. 25: P. 121–132.
16. Iurchenko V. V., Krivtsova E. K., Podol'naya M. A. et al. (2007) **Mikroiaderny test epiteliya shcheki v kompleksnoy otsenke ekologicheskogo blagopoluchiya detey v Moskve [Buccal epithelial micronuclear test in the comprehensive assessment of children's ecological well-being in Moscow]**. *Gig Sanit.* № 6: P. 83–86.
17. Khrisanova E. N. (2002) **Antropologiya: Uchebnik [Anthropology: A Textbook]**. 3-nd ed. M.: Vyssh. shk.
18. Koss L. G. (1979) Philadelphia-Toronto: J. B. Lippincott Co.
19. Kracker S., Bergmann Y., Demuth I. et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 102: P. 1584–1589.
20. Kuzovatov S. N., Kravtsov V. Yu., Vakhtin Yu. B. (2000) **Mezhiadernye chromosomnye mosty i iadra s protruziyami v kletochnykh populatsiyakh rhabdomyosarkomy RA-23 krysa [Internuclear chromosomal bridges and nuclei with protrusions in cellular populations of rat PA-23 rhabdomyosarcoma]**. *Tsitologiya*. V. 42 (11): P. 1097–1102.
21. Lakin G. F. (1980) **Biometriya. Uchebnoye posobiye dlya biol. spets. Vuzov. [Biometrics. Textbook for biol. Universities specials]**. 3-nd ed., Rev. and add. M.: Vyssh. shkola.
22. Lockett K. L., Hall M. C., Xu J. et al. (2004) *Cancer Res.* V. 64: P. 6344–6348.
23. Melnov S. B., Malinovskaya Yu. V. (2008) **Molekuliarno-geneticheskiye mekhanizmy formirovaniya genomnoy nestabilnosti pri nizkodozovykh vozdeystviyakh u cheloveka [Molecular and genetic mechanisms of genomic instability at low-dose exposures in humans]**. *Molecular and application genetics*. V. 7: P. 148–156.
24. **Normy radiatsionnoy bezopasnosti (NRB-99/2009) [Radiation Safety Standards (NRB-99/2009)]** (2009). M.: Russian Ministry of Health Care.
25. Oestreicher U., Braselmann H., Stephan G. (2004) *Cytogenet. Genome Res.* V. 104: P. 232–236.
26. Onishchenko G. G. (2008) **O sostoianii kontrolya za radiatsionnoy bezopasnostyu naseleniya ot prirodnykh istochnikov ioniziruyushchego izlucheniya [On the state of control of the radiation safety of the population from natural sources of ionizing radiation]**. *Public health and environment*. № 4: P. 9–11.
27. Pelevina I. I., Oradovskaya I. V., Mansurova Yu. G. et al. (2010) **Svaz molekuliarno-kletochnykh pokazateley i immunnogo statusa u limfotsitov krovi likvidatorov avarii na ChAES [The connection between molecular-cellular parameters and immune status of liquidators after Chernobyl accident]**. *Radiats Biol Radioecol*; V. 50 (5): P. 501–507.

28. Rikhvanov L. P. (2009) **Radioaktivnye elementy v okruzhayushchey srede i problemy radioekologii: uchebnoye posobiye** [Radioactive elements in the environment and Radioecology problems: Tutorial]. Tomsk: STT.
29. **Rukovodstvo po primeneniyu diagnosticheskikh naborov dlia vyavleniia polimorfizmov v genome cheloveka metodom PTsR «SNP-Ekspress»** [Guidance on the application of diagnostic kits for the detection of polymorphisms in the human genome by PCR «SNP-Express» method] Cited 21.05.2013. URL: http://www.lytech.ru/data/file/snp_express_manual_2012_10_03_ef.pdf.
30. Savitsky K., Bar-Shira A., Gilad S et al. (1995) *Science*. V. 268: P. 1749–1753.
31. Sharma S. D., Iqbal M. (2005) *Biol. Pharm. Bull.* V. 28: P. 843–847.
32. Shiloh Y. (2003) *Nat. Rev. Cancer*. V. 3: P. 155–168.
33. Sycheva L. P. (2007) **Biologicheskoye znachenie, kriterii opredeleniia i predely varyirovaniia polnogo spektra kariologicheskikh pokazateley pri otsenke tsitogeneticheskogo statusa cheloveka** [Full range of karyological indicators limits of variation, determining criterias and biological significance in assessing of human cytogenetic status]. *Medical genetics*. № 11: P. 3–11.
34. Sycheva L. P., Ivanov S. I., Kovalenko M. A. et al. (2010) **Tsitogeneticheskiiy status detey, prozhivayushchikh vblizi tsellyulozno-bumazhnogo kombinata** [The cytogenetic status of children living in the vicinity of a pulp-and-paper mill]. *Gig Sanit.* № 1: P. 7–10.
35. Sycheva L. P., Zhurkov V. S., Rakhmanin Yu. A. (2013) **Aktualnye problemy geneticheskoy toksikologii** [Actual problems of genetic toxicology]. *Genetiks*. V. 49 (3): P. 293–302.
36. Tawn E. J., Whitehouse C. A., Riddell A. E. (2006) *Radiation Research*. V. 165: P. 592–597.
37. Thomas P., Hollad N., Bolognesi C. et al. (2009) *Nat. Protoc.* V. 4: P. 825–837.
38. Timoshevskiy V. A., Lebedev I. N., Vasilyev S. A. et al. (2010) **Chromosomny i tsitomnyy analiz somaticheskikh kletok rabotnikov radiokhimicheskogo proizvodstva s inkorporirovannym 239 Pu** [Chromosome and Cytome Assay of the Somatic cells of Nuclear-chemical Production Workers with Incorporated 239 Pu]. *Radiats Biol Radioecol.* V. 50 (6): P. 672–680.
39. Tolbert P. E., Shy C. M., Allen J. W. (1991) *Am. J. Epid.* V. 134: P. 840–850.
40. Tolbert P. E., Shy C. M., Allen J. W. (1992) *Mut. Res.* V. 271: P. 69–77.
41. Torres-Bugarin O., De Anda-Casillas A., Ramirez-Munoz M. P. et al. (1998) *Mut. Res.* V. 413: P. 277–281.
42. Utkin V. I. (2000) **Gazovoe dykhanie Zemli** [Gas breath of the Earth]. *Soros educational journal*. V. 6 (3): P. 73–80.
43. Veir B. (2010) **Analiz geneticheskikh dannykh** [Genetic Data Analysis]. Per. s angl. M.: Mir.
44. **Zaks L. (1976) Statisticheskoye otsenivaniye** [Statistical estimation]. M.: Statistika.
45. Zaychik A. Sh., Churilov L. P. (2008) **Obshchaia patofiziologiya (s osnovami immunopatologii)**. *Uchebnik dlia studentov medVUZov*. [General pathophysiology (the basics of immunopathology). Textbook for students of medical universities]. 4-th ed. SPb.: ELBI-SPb.
46. Zheng J., Zhang C., Jiang L. et al. (2011) *Mol. Carcinog.* V. 50: P. 689–696.

✉ Информация об авторах

Мейер Алина Викторовна — к. б. н., ассистент кафедры генетики. Биологический факультет. ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет. 650043, Кемерово, ул. Красная, д. 6. E-mail: shapo-alina@yandex.ru.

Толочко Татьяна Андреевна — старший преподаватель. Биологический факультет, кафедра генетики. ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет. 650043, Кемерово, ул. Красная, д. 6. E-mail: totat@list.ru.

Минина Варвара Ивановна — к. б. н., доцент, заведующая лабораторией. Лаборатория цитогенетики. ФГБУН Институт экологии человека Сибирского отделения Российской академии наук. 650065, Кемерово, Ленинградский пр-т, д. 10. E-mail: vminina@mail.ru.

Тимофеева Анна Александровна — инженер. Лаборатория цитогенетики. ФГБУН Институт экологии человека Сибирского отделения Российской академии наук. 650065, Кемерово, Ленинградский пр-т, д. 10. E-mail: coldunica@mail.ru.

Meyer Alina Viktorovna — PhD, assistant Department of Genetics. Faculty of Biology, Kemerovo State University. 650043, Krasnaya St., 6, Russia. E-mail: shapo-alina@yandex.ru.

Tolochko Tatyana Andreyevna — Teacher. Faculty of Biology, Department of Genetics. Kemerovo State University. 650043, Krasnaya St., 6, Russia. E-mail: totat@list.ru.

Minina Varvara Ivanovna — Head of the Laboratory. Laboratory of Cytogenetics. Institute of Human Ecology SB RAS. 650065, Leningradskiy prospect, 10, Russia. E-mail: vminina@mail.ru.

Timofeyeva Anna Aleksandrovna — Engineer. Laboratory of Cytogenetics. Institute of Human Ecology SB RAS. 650065, Leningradskiy prospect, 10, Russia. E-mail: coldunica@mail.ru.