

В. ГЛАЗКО, Т. ГЛАЗКО

ЧОРНОБИЛЬ: НОВИЙ ПОГЛЯД НА ВПЛИВ МАЛИХ ДОЗ

Спливло 19 років після аварії на ЧАЕС. Чорнобиль став горезвісним символом, однак в історії людства це не єдина масштабна антропогенна катастрофа. На жаль, мало підстав сподіватися, що нічого подібного більше ніколи не трапиться. Тому так важливо глибоко і всебічно досліджувати популяційно-генетичні процеси, які відбуваються у Чорнобильській зоні відчуження, щоб навчитися прогнозувати і пом'якшувати їхні наслідки.

**ЧОРНОБИЛЬ ЯК МОДЕЛЬНА СИСТЕМА
ЕКОЛОГІЧНИХ КАТАСТРОФ**

Щоб розуміти, як саме розвиваються екологічні катаклізми, вміти передбачати настання їх чергового етапу, необхідно мати модель гострої екологічної катастрофи, доступну для комплексного дослідження. Такою моделлю і є тридцятикілометрова зона відчуження Чорнобильської АЕС. Це унікальний у світовому масштабі полігон: адже на обмеженій території відбулися різкі зміни цілого комплексу екологічних чинників, і на тлі цих змін відтворюються представники безлічі таксономічних груп живих організмів, зокрема вищі ссавці — гризуни, птахи, велика рогата худоба.

Будь-яка екологічна катастрофа знищує оптимальні умови для існування одних видів та внутрішньовидових груп і водночас створює умови, сприятливі для інших. Отже, наслідки екологічної катастрофи можна

помітно пом'якшити, якщо правильно підібрати види, життєдіяльність і відтворення яких не просто сумісні з новими екологічними умовами, а й сприяють нормалізації природного середовища. Проте наші знання в цьому поки що мізерні, і щоб їх поповнити, необхідні серйозні дослідження процесів, які стихійно і дуже активно відбуваються у зоні відчуження Чорнобильської АЕС. Особливо це стосується процесів генетичних.

МУТАЦІЇ: ПРИЧИНИ І НАСЛІДКИ

Спонтанні первинні пошкодження матеріалу спадковості (ДНК) і їх реалізація у нерепаровані мутації. В умовах, що склалися після Чорнобильської аварії, спостерігаються як самостійні, так і комбіновані прояви процесів спадкової та неспадкової мінливості генетичної інформації, що виражається у гено- та фенотиповій мінли-

© ГЛАЗКО Валерій Іванович. Доктор сільськогосподарських наук. Завідувач відділу радіоекології Інституту агроєкології і біотехнології Української академії аграрних наук.
ГЛАЗКО Тетяна Теодорівна. Доктор сільськогосподарських наук. Завідувач відділу молекулярно-генетичних досліджень тієї ж установи (Київ). 2005.

вості, у порушеннях репарації ДНК і мітохондричного та мейотичного циклів, у підвищенні ембріональної загибелі та зниженні тривалості постнатального життя тощо. Проте, незважаючи на велику кількість виконаних у Чорнобильській зоні досліджень, у більшості випадків так і не були отримані відповіді на вкрай важливі питання: що саме стало першопричиною виявлених змін, який механізм їх прояву, які генетичні процеси домінують і як спрямована їхня дія? Окрім того, наявні матеріали красномовно свідчать, що описані раніше в лабораторних умовах генетичні ефекти радіаційного впливу далеко не завжди можна екстраполювати на явища, спостережувані у природі; так само, як закономірності, індуковані гострим опроміненням, — на сферу хронічної низькофонової дії.

Досі навіть відсутня загальна концепція того, що ж є головним генетичним наслідком низькодозових опромінь. Як правило, під цим розуміють тільки мутагенні ефекти і підвищення частоти онкологічних захворювань. Проте мутації, найчастіше несприятливі за наслідком, призводять до істотного зниження життєздатності їхніх носіїв, швидко виводяться з популяції соматичних і генеративних клітин, отже, не роблять помітного внеску у генофонд наступних поколінь. Кількість мутантних осіб дає змогу прогнозувати лише ступінь змін відповідного генофонду. Більш важливим є дізнатися, які зміни відбуваються у структурі генофонду популяції. Тобто для вивчення реальних генетичних наслідків екологічних катастроф виявлення нових мутацій — не кінцевий етап дослідження, а тільки його початок, оскільки далі необхідно з'ясувати генетично зумовлені причини і популяційні наслідки їх виникнення.

Генетичні порушення виникають в організмі постійно, однак тільки незначна їх частина зберігається довше, ніж два-три клітинні поділи. Тобто навіть якщо порушень

справді багато, негативні наслідки спричинять далеко не всі.

Наявність мутацій — не обов'язково результат їх індукції. З більшою вірогідністю вони є наслідком неполадок у системі контролю за реалізацією у мутації початкових пошкоджень генетичного матеріалу. Такі пошкодження виникають спонтанно, як, наприклад, апуринові/апіримідинові сайти, і є попередниками власне мутацій.

Хімічні події, які спричиняють пошкодження ДНК, включають гідроліз, окиснення й електрофільні дії. Ці реакції відбуваються тому, що клітини зазнають впливу хімічних екзогенних речовин (тобто агентів зовнішнього середовища, забруднювачів їжі тощо) або вони можуть виникати внаслідок ендогенних метаболічних процесів. Вважають, що екзогенні хімічні речовини є головними факторами пошкоджень ДНК, які зумовлюють, зокрема, появу злоякісних пухлин у людини. Однак розвиток методів аналітичної хімії засвідчив наявність великої кількості різноманітних пошкоджень ДНК, що виникають під впливом ендогенних причин [8]. Так, апуринові/апіримідинові (АП) сайти у ДНК можуть з'явитися в результаті спонтанного гідролізу або ексцизійної репарації, яка каталізується глікозилазою. Накамура і Свенберг [11] підраховали кількість АП сайтів у ДНК тканин: вона досягає 50 000–200 000 на геном у більшості тканин людини і гризунів. Дослідники з'ясували, що їх кількість, так само, як і інших модифікацій нуклеотидних послідовностей, різко зростає за активізації окислювальних процесів у клітинах [8]. Це свідчить про те, що в геномі кожної клітини багатоклітинного організму існує величезна кількість потенційних генетичних дефектів, більшість з яких, очевидно, репарується.

Разом з тим прямі підрахунки мутацій у структурних генах підтверджують, що на рівні нуклеотидних послідовностей частота

спонтанних мутаційних подій (нуклеотидні заміни) дуже висока. Так, зокрема, у клітинах людини вона оцінюється як 5×10^{-11} на одну основу на один клітинний поділ [1]. Автори вказаної роботи розглядали нуклеотидні заміни, вставки-делеції нуклеотидів і більш комплексні зміни нуклеотидних послідовностей тільки у структурних генах, які можуть залишатися нерепарованими.

Припускаючи, що в середньому у гаплоїдному геномі однієї клітини міститься близько 100000 аурин/апиримідинових сайтів [11], доходимо висновку, що один такий сайт припадає на 3×10^4 нуклеотидів у середньому на геном, або 3×10^3 — на нуклеотидні послідовності, які кодують структурні гени. Звісно, що це значення істотно більше, ніж частота спонтанних мутацій за структурними генами (5×10^{-11}). Тобто такі потенційні генетичні дефекти, як АП сайти, реалізуються у мутації за структурними генами приблизно у 10 мільйонів разів рідше, ніж виникають.

Якщо врахувати, що кількість нуклеотидів у геномі кожної клітини людського організму оцінюється 6×10^9 на диплоїдний геном, і з них тільки майже 10% ($0,6 \times 10^9$) входить у власне структурні гени, то виявляється, що приблизно 1 нуклеотидна заміна виникає на 1000 клітин. Це означає: 0,1% з клітин, які діляться, набуває нерепарованого нуклеотидного дефекту тільки за структурними генами.

У людини приблизно 10^7 клітин ділиться щосекунди [8], отже, щосекунди може з'являтися майже 10 тисяч мутантних клітин.

Очевидно, за такої гігантської кількості потенційних генетичних дефектів і клітин, у яких ці дефекти реалізуються у нерепаровані мутаційні події за структурними генами, прояви мутацій починають залежати від обмежуючих їх чинників.

Наочним свідченням складності репараційних процесів у живих організмів може

служувати і порівняння напівлетальних поглинальних доз іонізуючого випромінювання. Так, у середньому для класу ссавців типова напівлетальна доза — це 4–6 Гр, для симбіонта людини *Escherichia coli* — 30 Гр, для мікроорганізму *Deinococcus radiodurans* — 3000 Гр. Відомо також, що частота спонтанних мутацій у мікробів на геном на реплікацію за структурними генами дещо менша, ніж у вищих еукаріот [1].

Системи контролю генетичної постійності є не тільки на клітинному, а й на організмовому рівні, причому надійність їх роботи прямо залежить від стану і функціональної активності кількох фізіологічних систем, зокрема імунної.

Мутації у соматичних клітинах не роблять організм мутантним, але вони можуть підвищувати ризик розвитку онкологічних захворювань. Якщо ж мутації відбуваються у статевих клітинах, має зростати частота народження мутантів у наступному поколінні. Але коли підійти до проблеми із чітких наукових позицій, то слід визнати: однозначних даних про збільшення частоти онкологічних захворювань (окрім раку щитоподібної залози) і появу мутантних організмів внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС сьогодні немає.

Виявлене підвищення частоти мутантних особин. Уперше підвищення частоти мутаційних подій у зв'язку зі зростанням дози іонізуючого випромінювання у постчорнобильський період було виявлене Ю. Дубровою зі співавторами [2] у дітей ліквідаторів за мінісателітними локусами (тандемні повтори з довжиною елементарної одиниці більше 8 нуклеотидів). Проте одержані в цій роботі результати свідчать про відмінності у мінісателітних локусах за частотами виникнення нових мутацій, а також залежність їхньої частоти від статі.

Слід підкреслити, що механізм виникнення мутацій за мінісателітними локусами (вставка-делеція копій) принципово від-

різняється від структурних генів і зумовлений здебільшого помилками реплікації («злипання» повторів) або підвищеною частотою нерівного кросинговера за тандемними повторами у мейозі. Тобто мутаційні події за цими локусами істотно відрізняються від структурних генів як за механізмами виникнення (кількість копій повторів, нуклеотидні заміни у структурних генах), так і за частотами спонтанного виникнення мутацій. Відмінності за частотою виникнення сягають кількох тисяч, оскільки звичайно прийнято вважати, що частота мутаційних подій приблизно дорівнює 10^{-6} на структурний ген на покоління, а за мінісателітними локусами частота спонтанних мутаційних подій варіює на різних локусах від 0,9 до 7×10^{-3} [2].

Підвищення частоти мутаційних подій у дітей ліквідаторів виявлене також у роботах Е. Нево і співавторів за молекулярно-генетичними маркерами анонімних послідовностей ДНК (RAPD-PCR, ISSR-PCR) [15]. ISSR-PCR є розвитком методу RAPD-PCR: як один праймер тут використовують 19–21 олігонуклеотид, що представлені ди- або тринуклеотидним мікросателітним повтором. Х. Еллегрен і співавтори також отримали дані про збільшення мутацій у зоні відчуження Чорнобильської АЕС за мікросателітними локусами у птахів (*Hirundo rusica*) [3].

Неоднозначність інтерпретації таких матеріалів зумовлена тим, що міні- і тандемні повтори мікросателітів дотепер залишаються недостатньо дослідженою частиною геному вищих організмів як щодо їх внутрішньої гетерогенності, швидкостей еволюції, чинників, які впливають на їхню мінливість, так і стосовно фенотипових наслідків їх мутації. Однак і досі не вдалося зафіксувати підвищення мутацій внаслідок ядерних катастроф (вибухи атомних бомб у Японії, Киштимська, Чорнобильська аварії) за структурними генами, які кодують білки.

Ситуація, коли не вдавалося виявити мутації у кодуючих ділянках ДНК (а такі дослідження велися) або довести, що під впливом радіації зросла частота онкологічних захворювань постраждалого населення, була і в Японії після вибухів атомних бомб. Чому це так?

З'ясувати причину онкологічного захворювання завжди дуже складно. Ракове переродження може бути спровоковане і прискорене багатьма чинниками, зокрема, змінами стану імунної та нейроендокринної систем. Тому важко сказати напевне, чи утворилася конкретна пухлина внаслідок прямого генетичного пошкодження, чи вона вже існувала, а зовнішній фактор тільки прискорив її розвиток.

З генетичними монстрами теж не все просто, оскільки монстри-виродки можуть виникнути і без генетичних пошкоджень. Їхню появу спричинюють різні захворювання матері, травми, контакти з хімічними речовинами у критичні періоди розвитку плоду.

КУДИ ПОДІЛИСЯ МУТАНТИ?

Уся радіобіологія виросла на роботах Г.А. Надсона, Ц.Р. Філіппова, Г. Меллерана, Л. Стадлера і М.В. Тимофєєва-Ресовського, які вивчали мутації, що виникли під впливом іонізуючого випромінювання у дріжджів, плодової мушки дрозофіли та інших багатоклітинних організмів. Є навіть чітко обґрунтовані розрахунки, які визначають співвідношення між дозою дії радіації і кількістю мутацій.

Наші дослідження виконувалися на різних лініях лабораторних мишей, видів полівок, котрих відловлюють у зоні відчуження Чорнобильської АЕС, і поколіннях великої рогатої худоби. Аварія на ЧАЕС сталася 26 квітня 1986 року, а у вересні 1987-го директор Чорнобильського міжнародного наукового центру професор Микола Архипов і завідувач лабораторії радіоекології тварин Микола Буров знайшли за

чотири кілометри від реактора трьох корів і бика, що пережили зиму у тридцятикілометровій зоні відчуження. У паніці евакуації про тварин забули, і вони розбрелися по лісу. Коров і бика перевезли на ферму до Новошепеличів, що за 10 кілометрів від «саркофага». Бика назвали Ураном, а корів — Альфа, Бета і Гамма. Ці тварини становили особливий інтерес, оскільки ділянка їхнього постійного місцезнаходження, згодом, покривала південно-західний сектор зони навколо Чорнобильської АЕС, з відстанню від аварійного реактора 3–8 км, де й розташовуються колишні населені пункти Копачі, Чистогалівка, а також хутір Чистогалівський і дачне селище в районі с. Янів. Радіоекологічні умови цього району відрізнялися дуже високим забрудненням угідь: щільність випадінь радіоактивних цезію і стронцію варіювала від 1 до 30 МБк/м², а плутонію — від 0,01 до 0,5 МБк/м². Ці тварини послужили основою експериментального стада, яке у подальшому відтворювалося в умовах радіонуклідного забруднення величиною близько 200 Кі/км². Навесні 1990 року з метою розширення можливостей для проведення експериментальних робіт у віварій «Новошепеличі» були завезені 10 голів великої рогатої худоби чорно-строкатої породи з смт. Поліське, а протягом літа 1993 року — корови тієї самої породи з експериментального господарства «Куповате» (Чорнобильська зона відчуження), три з яких залишили для розплоду.

У видів, у геномі яких є одноплечі хромосоми (а саме до них належать миші лабораторних ліній і велика рогата худоба), іноді з'являються спонтанні мутанти із злитими двоплечими хромосомами. Таке злиття називають робертсонівськими транслокаціями. Природно було сподіватися, що, принаймні, мутанти з робертсонівськими транслокаціями в зоні будуть. Тим більше, що в районах з підвищеними сейсмічною активністю і фоном іонізуючого випромінювання

(роботи М.М. Воронцова), а також внаслідок опромінювання мишей у лабораторних умовах такі мутанти з'являються у нащадках частіше від звичайного. Але поблизу ЧАЕС не виявили навіть їх.

І все-таки дещо знайти вдалося. Після Чорнобильської катастрофи і у тварин, і в людей у різних регіонах (у 1987 році це було зареєстровано навіть у мешканців Данії) явно підвищилася частота зустрічальності соматичних клітин з хромосомними поломками. Щоправда, дотепер невідомо: чи пов'язано це із збільшенням частоти їх виникнення, чи з тим, що захисні системи організму повільніше видаляють їх. Втім, у будь-якому випадку не залишилося сумнівів: мутації з'являються і в статевих клітинах, проте різні системи відбору дуже ефективно борються з ними.

Наші колеги з Інституту молекулярної біології і генетики, член-кореспондент НАН України С.С. Малюта і доктор біологічних наук О.П. Соломко, досліджували ембріональну смертність у мишей лабораторних ліній, що зазнали іонізуючого опромінювання у зоні відчуження Чорнобильської АЕС. І вона справді виявилася підвищеною, причому до імплантації ембріона у матку. Створилося враження, що якщо вже імплантація відбулася, то народжується нормальна миша. Навіть при штучному культивуванні ранніх ембріонів, вимитих з опромінених мишей, було видно: частина з них запізнюється з дробленням. Це означало, що такі зародки просто не готові до імплантації і гинуть через порушення синхронності подій між послідовністю дроблення ембріона і гормональними змінами, які відбуваються у материнському організмі.

Про те, що клітинний поділ може запізнюватися через пошкодження генетичного матеріалу, добре відомо і цілком з'ясовано: чим більше генетичних дефектів треба лікувати, тим довше триває кожна стадія клітинного циклу.

Отже, на запитання, куди діваються мутанти, очевидно, можна відповісти так: мутанти не народжуються. І тут кілька припущень: або не формуються гамети з пошкоджених премейотичних клітин, або ембріони, які їх несуть, елімінуються на ранніх стадіях дроблення чи виявляються нездатними до імплантації.

«СЛОВ'ЯНСЬКИЙ ХРЕСТ»

Покоління великої рогатої худоби. Відбір, напевно, існує і в процесі мейозу — утворення гамет. І тут ми виявили явище досить незвичне, яке виходить за рамки простого вибраковування клітин з генетичними дефектами. З'ясувалося, що в нашому експериментальному стаді великої рогатої худоби різні алелі деяких генів передаються нащадкам з різною вірогідністю.

Частина батьківського покоління вже загинула, а в 2002 році помер і бик Уран. Проте слід зазначити, що за час існування цього стада корови Альфа, Бета і Гамма приносили в середньому по 0,9 теляти на рік, та й бик Уран у віці 17 років ще зберігав свою репродуктивну функцію. А от корови першого покоління, народжені в умовах підвищеного радіаційного фону, приносили телят майже вдвічі рідше. Крім того, у поколіннях тварин, які народилися в зоні, ми чітко спостерігали: один із основоположних законів генетики — закон рівноймовірної передачі алельних варіантів генів від батьків до нащадків — тут іноді не спрацьовує. Ми знайшли достовірні відхилення від нього для чотирьох генів: трансферину, церулоплазміну, рецептора до вітаміну Д і пуриннуклеозидфосфорилази. Стосовно двох перших, які кодують білки транспорту заліза і міді, то тут успадковувалися здебільшого варіанти з якнайменшою рухливістю в електричному полі (тобто з якнайменшим електричним зарядом і, ймовірно, стабільніші), а для рецептора до вітаміну Д перевагу мав,

навпаки, — «найшвидший» варіант. У пуриннуклеозидфосфорилазі звичайно успадковувався варіант з високою активністю.

З біохімічного погляду це дуже логічно. Адже рецептор до вітаміну Д бере участь, наприклад, у регуляції внутрішньоклітинного кальцієвого обміну, від якого залежить активність ферментів, що борються з вільними радикалами, які в надлишку виникають під впливом іонізуючого випромінювання. Пуриннуклеозидфосфорилаза бере участь у контролі темпів клітинного поділу. А для ферментів — переносників заліза і міді — важлива стабільність. Виходить, що для виживання в умовах радіоактивного забруднення деякі варіанти генів виявилися явно невідповідними, і особини, які їх мали, просто не народжувалися. На світ з'являлися лише ті, чийм ферментним системам вдавалося подолати несприятливі чинники середовища.

За іншими генами, навпаки, спостерігалося переважне народження гетерозигот: різні варіанти гена немовби прагнули об'єднатися в одному організмі, щоб він міг успішніше протидіяти зовнішнім впливам.

У наших дослідженнях досить виразно фіксувалася наявність відбору проти особин, які були носіями генотипів, характерних для високоспеціалізованої батьківської голштинської породи. Оскільки тварини експериментального господарства всіх поколінь були доступні для аналізу, ми побачили, які варіанти генів найчастіше не передаються нащадкам, вилучаються з генофонду. Так, у першому поколінні, що народилося у Чорнобилі від бика Урану, нащадки успадковували від корів найчастіше тільки один варіант гена трансферину з трьох можливих — Д2. Причому цей варіант звичайно типовий не для голштинів, а для примітивніших порід, але стійкіших проти несприятливих умов відтворення, наприклад, таких, як давня сіра українська худоба [5–7].

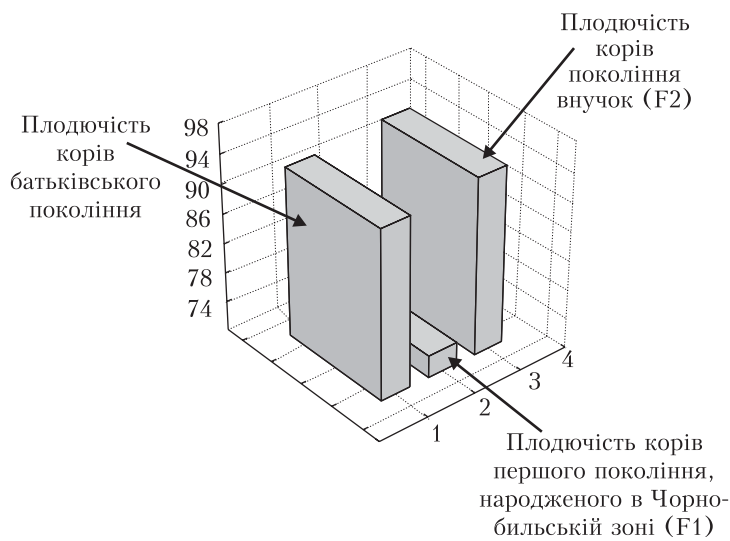


Рис. 1. Плодючість корів за кількістю телят на одну корову за рік: 1 – 16 корів батьківського покоління експериментального стада, народжених у «чистій» зоні, сумарно дали 96 телят ($0,93 \pm 0,03$ теляти на корову за рік); 20 з них (21%) померли у віці до 3 місяців після народження. 2 – F1, перше дочірнє покоління, народжене в умовах експериментального господарства «Новошепеличі» ($\sim 200 \text{ Ки/км}^2$). Серед 36 корів 21 (58%) були стерильними; тільки 15 корів F1 дали нащадків F2 покоління ($0,73 \pm 0,06$); 13 із них померли до тримісячного віку після народження (26%). 3–4 корови F2 народили 10 телят (F3) за 2–14 років ($0,94 \pm 0,06$ теляти на корову за рік)

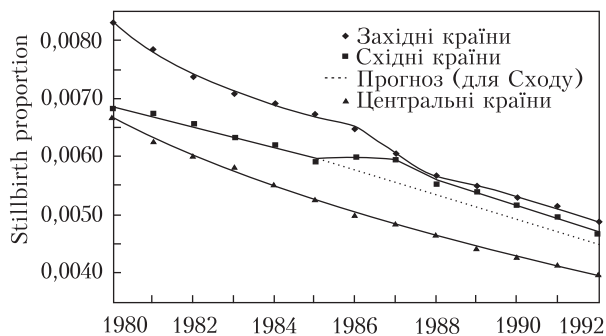


Рис. 2. Частка мертвонароджених дітей у трьох групах європейських країн протягом 1980–1990 років і лінійна регресійна модель за статистичними даними Н. Scherb, Е. Weigelt, Bruske-Hohlfeld (1999)

Процеси, завдяки яким елімуються такі гени, добре видно на рис. 1, де представлено кількість народжених телят за рік на одну корову в експериментальному стаді і кількість загиблих телят віком до трьох місяців після народження. Очевидно, що відмінності генетичної структури від батьківського покоління чималою мірою спри-

чинює і висока стерильність корів, які народилися у зоні відчуження ЧАЕС.

Цікаво підкреслити, що в роботі [14] також одержані чіткі дані про збільшення смертності дітей до року в європейських країнах після 1986-го (рік аварії на ЧАЕС). На рис. 2 відображено результати цього дослідження.

Отримані вказаними авторами відомості спонукають до думки, що так само, як і в наших дослідженнях на поколіннях корів, із цими загиблими дітьми втрачена і частина європейського генофонду.

І тут виникає інше запитання: якими мають бути дози радіонуклідного забруднення, щоб популяція ссавців відповіла на них підвищенням смертності частини новонароджених, змінами генетичної структури у поколіннях? Тобто які дози іонізуючого випромінювання повинні поглинути організми тварин і людей, щоб частина генофонду зникла з популяцій?

Популяції людини. Виявляється, що це досить непросте питання. По-перше, тому,

що на Землі є безліч регіонів, де рівень природного радіоактивного випромінювання в десятки і в сотні разів вищий від середньосвітового. Найвідоміший із них — провінція Рамзар в Ірані. Тут річна доза вимірюється 260 мЗв. Порівняйте із середньосвітовою у 3,5 мЗв на рік (Зв — еквівалентна одиниця поглиненої дози іонізуючого випромінювання, що дорівнює біологічним ефектам поглинання енергії 1 джоуль на 1 кг маси біологічного об'єкта). При цьому у Рамзарі не спостерігається ні збільшення смертності населення, ні народження дітей з природженими дефектами розвитку.

Однак виявляються чіткі відмінності за радіорезистентністю клітин крові жителів цієї провінції стосовно мешканців інших областей, де низький природний радіоактивний фон. Так, опромінювання клітин периферичної крові жителів Рамзара дозою 1,5 Гр у культурі призводило до істотно меншої появи клітин з цитогенетичними аномаліями порівняно з клітинами крові контрольної групи [4].

Загалом накопичені в літературі дані експериментальних досліджень популяцій людей, котрі мешкають у радіоактивних провінціях, свідчать, що в таких місцях з покоління у покоління триває селекція, спрямована на підвищення у популяції радіорезистентних особин.

Слід підкреслити, що серед 116 тисяч відселених з Чорнобильської зони людей тільки близько 5% одержали дозу іонізуючого випромінювання понад 100 мЗв на рік, і саме ця доза (вдвічі менша, ніж у Рамзарі) вважається тією межею, після якої починаються чіткі збільшення частоти онкологічних захворювань [10].

Тобто реальну небезпеку становить не сама доза іонізуючого випромінювання, а її «новизна» для даної популяції, виду або видових спільнот. Очевидно, що для жителів Рамзара збільшення річної дози на 3,5 мЗв навряд чи спричинюватиме негативні на-

слідки для здоров'я, але для більшості європейських популяцій, що не зустрічалися у ряді поколінь з дозами вище 1 мЗв на рік, така зміна може призвести до елімінації з генофонду радіочутливих особин і, відповідно, до зміни генетичної структури популяцій.

У нашому відділі виконано порівняльний аналіз частоти зустрічальності різних хромосомних поломок у клітинах крові дітей 14–15 років двох груп. Одну групу становили діти, що одержали дози іонізуючого випромінювання близько 30 мЗв протягом ембріонального періоду розвитку, другу групу — ті, які отримали майже таку саму дозу, але впродовж усього життя у забруднених радіонуклідами місцевостях (приблизно 1,5 мЗв на рік). З'ясувалося, що загалом між цими двома групами дітей відсутні відмінності за частотами зустрічальності клітин з цитогенетичними аномаліями. Проте у першій групі, після гострого опромінювання в ембріональному періоді, статистично достовірно частіше зустрічаються клітини із стабільними хромосомними аномаліями — такими, як транслокації, інверсії, інсерції.

Одержані дані свідчать, що в крові дітей накопичуються клони клітин з переліченими типами аномалій. А це, як відомо, може істотно ускладнювати формування у них статевих клітин (процес мейозу). Тобто можна очікувати, що у дітей, котрі отримали дози іонізуючого випромінювання в ембріональному періоді, виникатимуть проблеми з репродукцією [19, 20].

У літературі досить давно з'явилося поняття «слов'янський хрест», що відображає збільшення смертності і зменшення народжуваності у деяких слов'янських країнах. Одержані нами й іншими авторами дані спонукають до висновку: внесок Чорнобильської катастрофи у «крутизну» (вираженість) цього хреста європейські країни реально зможуть оцінити тільки роки через

двадцять, оскільки діти, котрі народилися після аварії на ЧАЕС, лише вступають у репродуктивний період.

Досліджували ми й інші види домашніх тварин у зоні, зокрема мишоподібних гризунів, навіть нутрій, але мутантів не знайшли і серед них.

Лабораторні лінії мишей. На мишах трьох різних лабораторних ліній було виявлено, що кожна з них характеризується своїм спонтанним мутаційним спектром у клітинах кісткового мозку, і лише деякі його показники змінюються у зв'язку з віком і сезоном дослідження. Так, для лінії мишей C57BL/6 типовим є наростання анеуплоїдії (хромосомних втрат) з віком і під час переходу до літнього сезону порівняно із зимовим. Для лінії CC57W/Mv зміни у зв'язку з віком і сезоном переважно спостерігалися за внутрішньохромосомними дефектами (хромосомні аберації); для лінії BALB/c — за часткою поліплоїдних клітин. Причому в умовах підвищеного (майже у 100 разів) рівня іонізуючого випромінювання (близько 0,4 Гр на рік) у спецвіварії поблизу Чорнобильської АЕС спостерігалось збільшення частоти зустрічальності у кожній лінії тільки тих аномалій, спонтанна нестабільність яких виявлялася у контрольних умовах [16]. Наприклад, у лінії C57BL/6 зро-

стала частота анеуплоїдних клітин, у лінії CC57W/Mv — метафаз із хромосомною аберацією. Тобто в даному випадку підвищення іонізуючого випромінювання не спричинювало появу нових характеристик у мутаційних спектрах мишей, а тільки посилювало прояви спонтанної нестабільності по окремих, лінійноспецифічних, характеристиках таких спектрів.

Слід зазначити, що у мишей існує чітка залежність від їхнього віку мутаційних ефектів підвищеного рівня іонізуючого випромінювання. Так, «старі» миші в контрольних умовах відрізнялися від «юних» особин лінії CC57W/Mv більшою частотою зустрічальності різних цитогенетичних аномалій, зокрема одноядерних лейкоцитів з мікроядрами. Однак у «старих» мишей експериментальної (чорнобильської) групи, які зазнавали протягом життя дії підвищеного рівня іонізуючого випромінювання, частота таких аномалій виявилася меншою не тільки щодо своєї вікової категорії, а й стосовно «юних» чорнобильських мишей (див. табл.). Ці відмінності супроводжуються статистично достовірним збільшенням клітин, які діляться, у кістковому мозку «старих» чорнобильських мишей порівняно з їх «старою» контрольною групою. Тобто протягом життя у зоні підвищеного рівня іонізуючого випромінювання

Кількість метафаз, дво- та одноядерних лімфоцитів з мікроядрами (на 1000 лімфоцитів) серед клітин кісткового мозку в різних вікових групах у контрольній (віварій, Київ) і чорнобильській (спецвіварій, Чорнобиль) популяціях лабораторної лінії мишей CC57W/Mv.

Групи мишей лінії CC57W/Mv	Вік мишей	Кількість мітозів на 1000 клітин	Кількість двоядерних лімфоцитів на 1000 клітин	Кількість двоядерних лімфоцитів з мікроядрами на 1000 клітин
Контрольна група (Київ)	2–3 місяці	*** 6,8 ± 0,5	4,5 ± 0,7	** 5,2 ± 0,3
Чорнобиль	2–3 місяці	5,6 ± 0,7	* 9,0 ± 1,4	** 14,4 ± 2,4
Контрольна група (Київ)	12–18 місяців	*** 3,5 ± 0,6	7,1 ± 1,3	* 10,5 ± 1,3
Чорнобиль	12–18 місяців	* 7,0 ± 1,0	* 5,0 ± 0,8	* 6,0 ± 0,8

* — P < 0,05; ** — P < 0,01; *** — P < 0,001

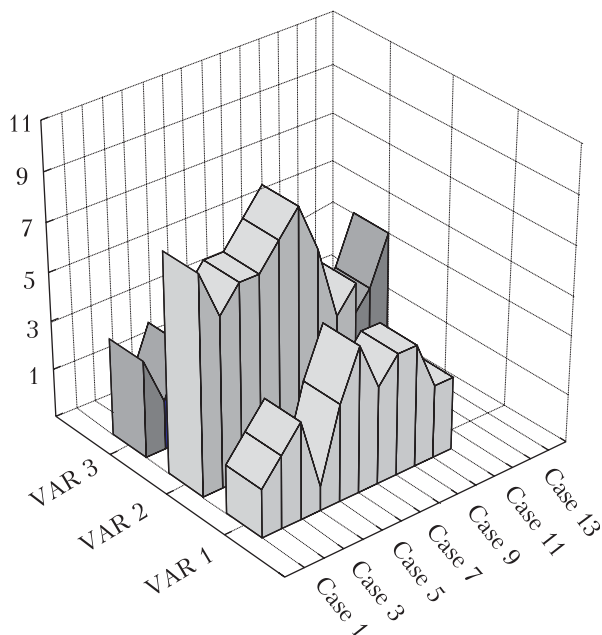


Рис. 3. Відбір на радіорезистентність у звичайної полівки (мікроядерний тест) у Чистогалівці ($\approx 300 - 500 \text{ Ки/км}^2$): 1 – контроль ($< 20 \text{ Ки/км}^2$); 2 – Чистогалівка, 1996 р.; 3 – Чистогалівка, 1999 р.

у мишей, на відміну від контрольних умов, не відбувається зменшення темпів клітинного поділу в кістковому мозку, що, очевидно, супроводжується прискоренням елімінації клітин з генетичними дефектами [17].

Цікаво, що подібні дані отримали й інші автори, які підтвердили: стимуляція клітинного поділу за високих доз іонізуючого випромінювання прискорює елімінацію клітин з генетичними дефектами [17].

Види полівок, яких відловлюють у зоні відчуження Чорнобильської АЕС. Виконано дослідження мутаційних спектрів і у представників трьох видів полівок (*Microtus arvalis*, *Microtus oeconomus* і *Clethrionomys glareolus*), відловлених у зоні відчуження Чорнобильської АЕС з підвищеним рівнем радіонуклідного забруднення. У найменш забруднених місцях ($< 5 \text{ Ки/км}^2$), в еволюційно «наймолодшого» виду з досліджених – звичайної полівки (*Microtus*

arvalis), виявлено високу частоту зустрічальності анеуплоїдних клітин; у рудої полівки (*Clethrionomys glareolus*) – метафази з міжхромосомним злиттям за типом робертсонівських транслокацій. Порівняно з цими видами клітини еволюційно «найстаршого» виду – полівки економки (*Microtus oeconomus*) – відзначалися відносно підвищеною стабільністю хромосомного апарату з досліджених характеристик мутаційних спектрів.

З'ясувалося, що у полівок, яких відловлюють у місцях з підвищеним рівнем радіонуклідного забруднення (Янів – 200 Ки/км^2 ; Чистогалівка – 500 Ки/км^2 ; «Рудий ліс» – 1000 Ки/км^2), у клітинах кісткового мозку спостерігається накопичення саме тих цитогенетичних аномалій, підвищена мінливість яких була видоспецифічною для мутаційних спектрів полівок і у відносно чистих місцях: для рудої полівки – метафази з робертсонівським міжхромосомним злиттям, для звичайної полівки – анеуплоїдія. Якнайменшою мінливістю у місцях з підвищеним радіонуклідним забрудненням відповідно відрізнялися мутаційні спектри клітин полівки економки. Як і у випадку лінійних мишей, підвищене іонізуюче випромінювання не спричинювало появу якісно нових характеристик мутаційних спектрів, а тільки посилювало ті видоспецифічні прояви таких спектрів, підвищена нестабільність яких спостерігалася у тварин, відловлених у чистих зонах [18].

Більше того, з'ясувалося, що з часом, попри високий рівень радіоактивного забруднення в місцях вилову гризунів, у представників різних їхніх видів поступово зменшувалася кількість мутантних клітин у кістковому мозку. Схоже, у нових умовах розмножувалися переважно особини, найстійкіші до ушкоджувальної дії іонізуючого випромінювання. Тобто відбувався інтенсивний відбір.

Результати цього аналізу представлені на рис. 3 і 4. Бачимо, що у звичайної і рудої полівки у 1996 році частота зустрічальності тварин з високими рівнями цитогенетичних аномалій клітин кісткового мозку істотно вища, ніж у контролі, і у тварин, відловлених у тих самих місцезнаваннях, але пізніше, в 1999 і в 2001 роках. Таке зменшення свідчить про поступове накопичення радіорезистентних особин. У рудій полівки воно чітко спостерігається тільки у тварин, відловлених у «Рудому лісі», де дуже високий рівень радіонуклідного забруднення ($>1000 \text{ Ки/км}^2$), на відміну від місцезнавання з меншим радіоактивним навантаженням (Янів, 200 Ки/км^2). Тобто швидкість відбору на радіорезистентність тим вища, чим вищий рівень радіонуклідного забруднення.

Привертає увагу і те, що навіть у ділянках зони відчуження з таким високим рівнем забруднення, як «Рудий ліс», накопичення радіорезистентних особин виявляється тільки в 1999-му, через 13 років після Чорнобильської аварії; відтоді змінилося 26 поколінь полівки (полівки розмножуються двічі на рік). З цього випливає висновок, що для появи людей з підвищеною стійкістю до іонізуючого випромінювання, як, наприклад, у популяціях місцевості Рамзар в Ірані, необхідно, щоб минуло приблизно 600 років, враховуючи репродуктивні особливості людини.

«СПРОЦЕННЯ» ПОПУЛЯЦІЙ

Отже, зона відчуження Чорнобильської АЕС — аж ніяк не заповідник для мутантів, а унікальна модельна система, в рамках якої зручно вивчати генетичні перетворення у популяціях, зумовлені зміною напрямку й інтенсивності природного відбору.

Зміни в генетичній структурі популяцій відбуваються на очах. Річ у тому, що штучно створювані спеціалізовані породи домашніх тварин — самі по собі «монстри»: мето-

дами селекції людина добивається переважного розвитку у тварин потрібних їй ознак, не замислюючись над тим, що це часто супроводжується зменшенням пристосованості особин до несприятливих умов. Різка зміна умов призвела до того, що виживають у Чорнобилі переважно якнайменше спеціалізовані форми: спостерігаємо процес «спрощення» популяцій. Ось і в стаді великої рогатої худоби в експериментальному господарстві «Новошепеличі» генетична структура дедалі більше відхиляється від типової для високоспеціалізованої молочної породи у бік менш спеціалізованих порід.

Напрямок відбору очевидний — перевагу для відтворення одержують особини, найстійкіші до генотоксичних впливів іонізуючого випромінювання. Цікаво, однак, що не

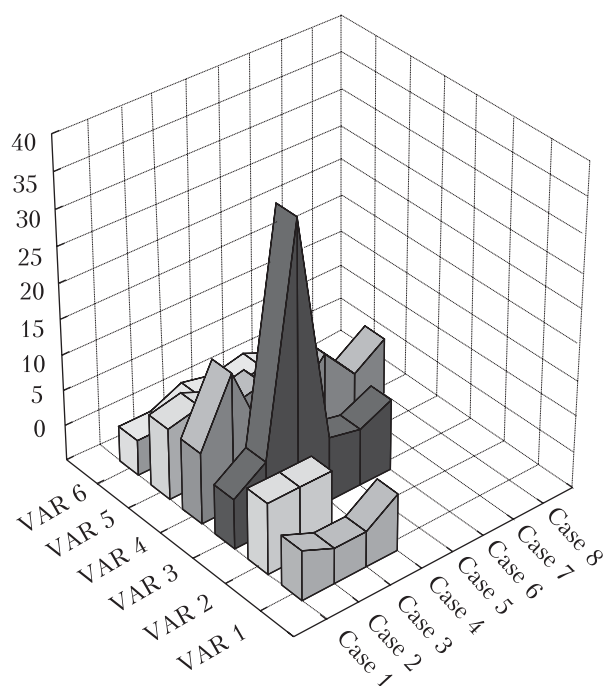


Рис. 4. Відбір на радіорезистентність у рудій полівки за частотами зустрічальності метафаз із хромосомними аберациями: 1 — контроль ($< 5 \text{ Ки/км}^2$); 2 — Янів, 1996 ($\sim 200 \text{ Ки/км}^2$); 3 — Янів, 1999 ($\sim 200 \text{ Ки/км}^2$); 4 — «Рудий ліс», 1996 ($400-1000 \text{ Ки/км}^2$); 5 — «Рудий ліс», 1999 ($400-1000 \text{ Ки/км}^2$); 6 — «Рудий ліс», 2001 ($400-1000 \text{ Ки/км}^2$)

тільки іонізуюче випромінювання, а й інші несприятливі фактори спричинюють поступове накопичення у групах великої рогатої худоби деяких варіантів окремих генів, причому тих самих. З'ясувалася, наприклад, схожість між коровами, які народжуються в умовах Чорнобиля, і тими, що з'явилися на світ у новому регіоні розведення — після переміщення групи великої рогатої худоби сірої української породи з Херсонської області до Сибіру.

Тобто практично у будь-яких нових екологічних умовах інтенсивність природного відбору зростає. Мутантні особини при цьому не виникають або не виживають, оскільки практично будь-яка мутація погано поєднується з тим комплексом адаптованих один до одного генів, який виник завдяки тривалому попередньому відбору. Крім того, нові умови іноді сприяють відтворенню особин, гетерозиготних за низкою генетичних локусів.

Загалом генетична адаптація популяції відбувається не розмноженням нових варіантів генів, а завдяки перетасуванню старих, щоб одержати комбінацію, сприятливу для нових умов. Дослідження генетичних процесів у різних видів у зоні відчуження ЧАЕС і дає змогу вичленувати у них ту частину генотипу, яка відповідає за виживання в умовах підвищеного тиску природного відбору.

Цікаво, що дози іонізуючого випромінювання (в межах досліджених нами) у лабораторних ліній мишей і у полівок тільки збільшують частоту зустрічальності цитогенетичних аномалій, за якими виявляється лінійно- і видоспецифічна підвищена мінливість у контрольних умовах. Враховуючи загальний високий рівень спонтанних пошкоджень ДНК і реалізованих нерепарованих мутацій у соматичних клітинах, можна вважати, що такі специфічні відмінності в характеристиках спонтанних мутаційних спектрів зумовлені генетично детермінованими дефектами відповідних репараційних систем. І якщо в цього організму

у відносно «чистих» зонах є певний дефіцит систем, контролюючих розходження хромосом у мітозі по дочірніх клітинах, як, наприклад, у мишей лінії C57BL/6 або у звичайних полівок, то передусім, під впливом генотоксичних ефектів, зростатимуть саме такі аномалії. Тобто спостерігатиметься не пряма індукція генетичних пошкоджень, а послаблення механізмів їх репарації або елімінації.

ПЛАТА ЗА ЖИТТЯ У ЗОНІ ВІДЧУЖЕННЯ

Усіх, однак, хвилює питання: якщо немає чітких доказів підвищення частоти зустрічальності мутантів у зоні відчуження Чорнобильської АЕС, а також сьогодні не доведено збільшення онкологічних захворювань у людей (за винятком раку щитоподібної залози), то, можливо, не все так страшно, як малювали одразу після аварії?

На жаль, не можна це підтвердити, оскільки вчені продовжують виявляти ушкоджуючу дію малих доз радіації на клітини, тканини і системи людського організму. Так, збільшується кількість клітин з хромосомними пошкодженнями, спостерігаються деякі інші характеристики (зокрема, у серцевому м'язі та в нирках тканиноспецифічні ферменти експресуються в іншій пропорції, не так, як у нормі). Це свідчить про те, що внутрішньоклітинні біохімічні механізми, а також системи контролю цілісності організму, такі, як імунна, працюють на межі можливостей, а деколи і зовсім не справляються зі своїми функціями.

Не може не насторожувати і те, що у корів, народжених у зоні, істотно знижується плодючість. Оогонії (попередники яйцеклітин) закладаються у ссавців в ембріогенезі, і самки народжуються вже з тим чи іншим їх запасом, який і витрачається протягом життя. Іонізуюче випромінювання у відносно низьких дозах майже не впливає на репродуктивну функцію зрілого організму, але помітно позначається на плодючості нащадків.

Зрозуміло, що відновити її, перевівши тварин у «чисту» зону, навряд чи вдасться, оскільки запас яйцеклітин у них уже сформувався.

Хвороба або загибель однієї людини, — це, звичайно, біда і проблема родини. А втрата генофондом частини генів, носії яких не народилися у зв'язку із зміною екологічних умов їх відтворення, оскільки особини популяції виявилися непристосованими до нового середовища життя, — це біда і проблема виду в цілому, у тому числі і людини.

Адже якщо у корів народжуються не всі телята, які могли з'явитися у них до Чорнобильської катастрофи, то цілком правомірно припустити, що це стосується і людей. Звичайно, природний відбір, спрямований проти носіїв підвищених інтелектуальних потенцій, — це гіпотеза, однак, на жаль, не безпідставна. Так, у місцях, забруднених радіонуклідами, полівки будують примітивніші нори [9]. Комплексні дослідження, виконані датськими вченими, показали, що у дітей, народжених після перших вибухів атомних бомб в атмосфері, до шкільного віку виявили певні порушення інтелектуальних процесів, зокрема зниження здатності до абстрактного мислення. Такі ж вади були притаманні і маленьким датчанам, котрі народилися відразу після Чорнобильської катастрофи. Спеціально розроблені ігрові навчальні програми змогли допомогти їм, але це — в Данії [13]. А у нас? Статистика свідчить: в Україні зростає кількість дітей-інвалідів та учнів спеціалізованих шкіл.

Отже, на підставі виконаних досліджень можна зробити такі висновки.

Головною проблемою для популяцій різних видів, зокрема для людей, які мешкають на територіях, забруднених радіонуклідами після аварії на ЧАЕС, є не абсолютна величина одержаних доз іонізуючого випромінювання, а новизна цих доз для них.

Основні генетичні наслідки для популяцій різних видів полягають не в збільшенні кількості мутантних організмів, а в тому, що ча-

стина генів втрачається внаслідок селекції, спрямованої проти «радіочутливих» організмів. Тобто не з'являються нові гени, а вилучаються старі, пов'язані з підвищеною «чутливістю» організмів до нових умов відтворення. Є непрямі дані, які свідчать, що більш пристосованими всередині виду виявляються найменш спеціалізовані особини.

Реальні генетичні наслідки Чорнобильської катастрофи для мешканців європейських країн, її внесок у «слов'янський хрест» будуть відомі набагато пізніше, оскільки діти, котрі народилися після 1986 року, тільки вступають у репродуктивний період.

1. Rates of spontaneous mutation / Drake J.W., Charlesworth B., Charlesworth D., Crow J.F. // Genetics. — 1998. — V. 148. — P. 1667–1686.
2. Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident / Dubrova Y.E., Nesterov V.N., Krouchinsky N.G., Ostapenko V.A., Neumann R., Neil D.L., Jeffreys A.J. // Nature. — 1996. — V. 380. — P. 683–685.
3. Fitness loss and germline mutations in barn swallows breeding in Chernobyl / Ellegren H., Lindgren G., Primmer Z., Moller A.P. // Nature. — 1997. — V. 389. — N 9. — P. 593–596.
4. Very high background radiation areas of Ramsar, Iran: preliminary biological studies / Ghiassi-Nejad M., Mortazavi S.M., Cameron J.R., Niroomandrad A., Karam P.A. // Health Phys. — 2002. — V. 82. — N 1. — P. 87–93.
5. Glazko V.I. A note on genetic structure of cattle breed within increased ionizing zone at the Chernobyl accident area // Animal Science Papers and Reports. — 2001. — V. 19. — N 2. — P. 95–109.
6. The Dynamics of Allelic variants of Biochemical Markers in Generations of Cattle under Conditions of 30 km Zone of Chernobyl Accident / Glazko V.I., Glazko T.T., Arkhipov N.P., Sozinov A.A. // Tsukuba Association of Radiation Safety (TARS), Japan. — 1996. — V. 6–7. — P.124–132.
7. Glazko V.I., Glazko T.T. Problems of species gene pool conservation in mammals after the Chernobyl ecological catastrophe // Animal Science Papers and Reports. — 2004. — V. 22. — N 1. — P. 141–148.
8. Marnett L.J., Plastaras J.P. Endogenous DNA damage and mutation // Trends in Genetics. — 2001. — V. 17. — N 4. — P. 214–221.
9. Maslov B.I. Radiation situation in dwellings and shelters of mice-like Rodentia in conditions of biogeocenosis with increased natural radiation //

- Radioecological investigation in natural biogeocenosis / Moscow: Nauka. — P. 216–226.
10. *Masse R.* Ionizing radiation // 3 R Acad. Sci III. — 2000. — V. 323. — N 7. — P. 633–640.
 11. *Nakamura J., Swenberg J.A.* Endogenous apurinic/aprimidinic sites in genomic DNA of mammalian tissues // *Cancer Res.* — 1999. — V. 59. — P. 2522–2526.
 12. *Rothkamm D., Lobrich M.* Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses // *PNAS.* — 2003. — V. 100. — N 9. — P. 5057–5062.
 13. *Sankaranarayanan D.* Ionizing radiation and genetic risks. IV. Current methods, estimates of risk of Mendelian disease, human data and lessons from biochemical and molecular studies of mutations // *Mutation Research.* — 1991. — V. 258. — P. 99–122.
 14. *Scherb H., Weigelt E., Bruske-Hohlfeld I.* European stillbirth proportions before and after the Chernobyl accident // *International J. of Epidemiology.* — 1999. — V. 28. — P. 932–940.
 15. *Weinberg H.S., Korol A.B., Kirzhner V.M., Avivi A., Fahima T., Nevo E., Shapiro S., Rennert G., Piatak, Stepanova E.I., Skvarkaja E.* Very high mutation rate in offspring of Chernobyl accident liquidators // *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* — 2001. — V. 22. — N 268 (1471). — P. 1001–1005.
 16. *Глазко Т.Т., Ковалева О.А., Придатко О.Е.* Цитогенетические характеристики и их изменчивость у мышей линий BALB/с и С57BL/6 // Докл. НАН Украины. — 1999. — № 10. — С.191–196.
 17. Возрастная изменчивость некоторых характеристик дестабилизации кариотипа мышей линии СС57W/Мv / Глазко Т.Т., Сафонова Н.А., Ковалева О.А., Столина М.Р., Соломка А.П., Глазко В.И., Малюта С.С. // Докл. НАН Украины. — 1995. — № 9. — С.132–136.
 18. *Костенко С.А., Бунтова Е.Г., Глазко Т.Т.* Видоспецифичная дестабилизация кариотипа в условиях радионуклидного загрязнения (ЧАЭС) у полевок *Microtus arvalis*, *Clethrionomys glareolus*, *Microtus oeconomus* // *Цитология и генетика.* — 2001. — Т. 35. — № 2. — С. 11–18.
 19. *Настюкова В.В., Степанова Е.И., Глазко В.И.* Хромосомные аномалии у детей, подвергшихся

воздействию малых доз ионизирующей радиации // Докл. НАН Украины. — 2002. — № 11. — С. 178–183.

20. *Настюкова В.В., Степанова Е.И., Глазко В.И.* Цитогенетические эффекты у детей при разных условиях воздействия малых доз ионизирующего излучения // *Цитология и генетика.* — 2002. — Т.6. — С. 45–52.

В. Глазко, Т. Глазко

ЧОРНОБИЛЬ: НОВИЙ ПОГЛЯД НА ВПЛИВ МАЛИХ ДОЗ

Резюме

Аналізуються перші генетичні наслідки для популяцій різних видів організмів, зокрема для людей, які мешкають на територіях, забруднених внаслідок аварії на ЧАЕС. На широкому експериментальному і теоретичному матеріалі автори показують, що проблемою є не абсолютна величина одержаних доз, а новизна їх для досліджуваних популяцій. З'ясується, що частина генів, пов'язаних з підвищеною «радіочутливістю» організмів, елімінується. Натомість найбільш пристосованими виявляються найменш спеціалізовані особини, тобто відбувається «спрощення» популяцій.

V. Glazko, T. Glazko

CHORNOBYL: NEW VIEW ON INFLUENCE OF SMALL RADIATION DOSES

Summary

The first genetic consequences for populations of different types of organisms are analyzed, in particular for people who live at the polluted territories as a result of Chernobyl power plant failure. Based on the bulk of theoretical and practical material the authors show that the problem is caused not by the absolute value of received radiation dose but by their new character for population investigation. It's proved that the part of the genes connected with high radiation sensitivity is eliminated. The most adaptable individuals seem to be the less specialized ones, so simplification of populations takes place.