Министерство общего и профессионального образования Российской Федерации

Сыктывкарский государственный университет

Химико-биологический факультет

Кафедра физиологии человека и животных

Допустить к защите:

зав. кафедрой

д.б.н., проф.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_В.Г. Зайнулин

Дипломная работа

Комбинированное действие солей тория,

свинца и гамма-излучения на

мужские половые клетки

лабораторных мышей

Научный руководитель:

с.н.с., к.б.н. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.О. Ракин

Исполнитель:

студентка 153 группы \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ М.С. Фисуп

Сыктывкар 2000

Содержание

|  |  |
| --- | --- |
| Введение |  |
| Глава 1. Обзор литературы |  |
| 1.1. Действие ионизирующего излучения на наследственные структуры |  |
| 1.1.1. Действие малых доз ионизирующего излучения на биологические объекты |  |
| 1.1.2. Биологическое действие гамма-излучения |  |
| 1.2. Влияние тяжелых металлов на генетические структуры |  |
| 1.3. Особенности биологического действия инкорпорированных радионуклидов |  |
| 1.4. Комбинированное действие факторов различной природы на клеточные структуры |  |
| 1.5. Заключение |  |
| Глава 2. Материалы и методы |  |
| Глава 3. Результаты и обсуждение |  |
| Глава 4. Выводы |  |
| Литература |  |

Краткие обозначения:

ИИ – ионизирующее излучение

ДЛМ – доминантные летальные мутации

ПЛМ – поздние летальные мутации

РЛМ – ранние летальные мутации

АГС – аномалии головок спермиев

ТМ – тяжелые металлы

Введение

В последнее время остро стоит проблема биологической опасности и, в частности, генетической эффективности малых доз мутагенов. До сих пор не существует единого мнения о наличии или отсутствии «пороговой дозы», хотя факт «пороговой чувствительности клетки» не оспаривается практически никем. При этом наибольшую проблему в разрешении данной задачи представляет взаимная «интерференция» трех отправных точек при формировании генетического эффекта: мощности дозы, времени воздействия мутагена и состояния генотипа. Т.о. зависимость «доза-время-эффект» (Бурлакова, 1994) усложняется даже на предварительном этапе оценки влияния малых доз на биологические объекты, особенно если речь идет о природных популяциях. Не для кого не секрет, что именно малые дозы, в особенности ионизирующие излучения (ИИ), являются источником накопления генетического груза, ведущего к качественным изменениям в генетической структуре популяции и, в итоге, к осуществлению микроэволюционных событий.

Нельзя не обратить внимание и на характер биологического действия мутагена, т.е. на критерий оценки его влияния на организм - физический или химический. Если ИИ, в частности γ-излучение - чисто физический фактор, а тяжелые металлы (ТМ) - химический, то безусловно смешанным действием обладают тяжелые естественные радионуклиды (ТЕРН). Причем генетичес- кий эффект внутреннего облучения, который демонстрируют ТЕРН значительно превышает таковой от внешних источников ИИ при равных поглощенных дозах (Дубинин, 1978; Кузин, 1991 и др.).

Наконец, поскольку эти факторы в природе практически не встречаются и не взаимодействуют в «чистом» виде, то необходимо дать оценку их влияния на живые объекты в сочетаниях друг с другом. К тому же сведения о комплексном действии ТМ, ТЕРН и ИИ в малых дозах крайне скудны.

Генетическая опасность ТМ и ТЕРН, в отличие от токсической, изучена на сегодняшний день недостаточно, и результаты такого рода исследований довольно противоречивы. Особенно мало данных по влиянию этих веществ на генеративные клетки и ткани, отвечающие за возрастание эмбриональной смертности и, особенно, за накопление генетического груза в популяциях. Поэтому несомненную важность приобретают исследования генотоксического действия ТМ, ТЕРН и ИИ на гаметогенез, в особенности на процесс формирования мужских половых клеток как значительно более уязвимых для мутагенных воздействий.

Поскольку в природе в основном приходится сталкиваться с низким и умеренным содержанием ТМ, ТЕРН и ИИ, то при проведении модельных экспериментов по исследованию их генотоксического гонадотропного действия особый интерес вызывает влияние концентраций этих веществ на 1-2 порядка ниже полулетальной дозы для млекопитающих (Левина, 1972), а пролонгированного γ -излучения - на 2-3 порядка (Кузин, 1991). Наиболее популярным объектом в такого рода исследованиях являются лабораторные млекопитающие чистых линий, генетический полиморфизм в лабораторных популяциях сведен к минимуму.

В настоящей работе предпринята попытка исследовать генотоксическое действие свинца и тория (в виде водных растворов нитрата) и пролонгированного γ-облучения малой мощности при формировании сперматогоний и ранних сперматоцитов у самцов мышей линии СВА генетическим и цитогенетическим методами. Таким образом нами изучалась чувствительность половых клеток, находящихся на ранних стадиях сперматогенеза к перечисленным мутагенам в «субвитальных» дозах и концентрациях.

**1. Обзор литературы**

**1.1 Действие ионизирующего излучения на наследственные структуры**

ИИ обладает сильным мутагенным эффектом. Для мутагенного действия наследственный материал является главной мишенью. Нарушение структурной организации приводит к изменениям в потомстве данного организм, либо к его гибели. Существуют гипотезы о возникновении генетических перестроек. К примеру, физиологическая гипотеза предполагает возникновение мутаций не в фазе непосредственного повреждения генетического аппарата, но при нетождественной репарации. (Лобашов, 1947). Предложенная В.И. Корогодиным (1966) гипотеза основывается на предложении, что результат внешнего воздействия - потенциальные повреждения наследственных структур, переходящие в истинные.

Первичные повреждения наследственного материала, вызванные ИИ, заключаются в одно- и двунитевых разрывах глюкозидной связи с последующим удалением оснований из полимерной ДНК; образующиеся деструктивные основания, «апуриновые, амидопириповые участки могут служить субстратом для специфических эндонуклиаз. Азотные основания повреждаются в два - три чаще, чем однонитеевые разрывы фосфодиэфирных связей. В свою очередь однотиевые разрывы формируются на 1-1,5 порядка чаще, чем двунитевые (Жестяников, 1979). Наиболее радиоустойчивы - нуклиазидные связи в нуклеиновых кислотах, они в 7-9 раз стабильнее, чем фосфодиэфирные (Кузин, 1973).

Согласно теории Д. Кроузера (Ли, 1963) первичным актом является попадание кванта энергии в определенную структуру, и ионизация, вызывающая повреждение, возникает именно в ней. Однако после открытия репарационных ферментных систем стали очевидны возможности возникновения скрытых повреждений. которые не всегда завершаются проявлением адекватного радиогенетического эффекта (Корогодин. 1966).

Структурно-метаболическая теория предвидит возможность, когда в следствие радиохимических процессов в ядре клетки формируются вещества, вызывающие повреждение структур ДНК и ДНП (Кузин, 1973).

В конечном итоге, повреждения формируются в несгабильной структуре, исход которых может быть либо возникновением точковых мутаций и формирование хромосомных аберраций, либо первичные изменения могут быть репарированы. При чем зависимость выхода точковых и хромосомных мутаций обусловлена различными механизмами возникновения этих двух типов мутаций. Например, различная мощность дозы не влияет на выход точковых мутаций у дрозофилы, в то время, как уровень аберрантных перестроек увеличивался пропорционально увеличению мощности дозы гамма-облучения. Сходные результаты при обработке линейных мышей рентгеновскими лучами получили П. Буул и Дж. Гудзварт (Buul, Goudzwart 1986, цирк. по Ракину).

В частности, наличие гена, нарушающего рекомбинацию, под влиянием гамма лучей не вызывала увеличения частоты РЛМ у дрозофилы, хотя выход гиперплоидных самцов при этом был различен (Miyamoto, 1983, цит, по Ракину).

На выраженность радиогенетического эффекта может влиять митотическая активность клетки. Чем больше времени проходит между делениями клетки, тем больше событий аберрантной природы (Gaulden, Weber, 1984, цирк. по Ракину).

Безусловно и то, что индукция хромосомных аберраций зависит от дифференцировки клеток. Большая резистентность больших лимфоцитов по сравнению с малыми объясняется тем, что у последних в процессе дифференциации сильно возрастает плотность спирализации ДНК, что ведет к утрате способности к эксцизионной репарации (George e.a.; 1987, цит. по Ракину).

Неодинакова радиочувствительность клеток различных тканей одного и того же организма. Это четко показал И. Буул при сравнении реакции на облучение сперматоцитов и клеток костного мозга мышей, в последних образуется в 4,5 раза больше аберраций, чем в половых клетках. Аналогична картина и при сравнении сперматоцитов и клеток роговицы глаза мыши. Такое несоответствие можно объяснить различной активностью репаративных энзимов в тканях выполняющих различные функции. Частота возникновения аберрантных перестроек в одной о той же хромосоме и негомологичных парах хромосом одного генома то же различна.

Выход хромосомных аберраций может зависеть от параметров, таких, как пол особи (Ватти, 1987), возраст, физиологическим состоянием клетки и организма в целом. Однако хромосомные аберрации могут возникать и без прямого воздействия ИИ за счет дестабилизации цепи ДНК, индуцированной в результате потери или модификации нуклеотидов, либо образование ДНК-межнитевых сшивок чипа димеров тимина (Liu, Heddle, 1981, цит. по Ракину).

На основании этих фактов можно предположить, что при действии ИИ на ДНК, первичные реакции начинаются с повреждения азотных оснований. В последствие нерепарируемые повреждения фиксируются в виде точковых мутаций, а другая часть поломок вследствие работы репаративных систем преобразуется в хромосомные перестройки.

* + 1. **Действие малых доз ионизирующего излучения на**

**биологические объекты**

Хроническое действие малых доз ИИ на организм также опасно, как и однократное воздействие мега-дозы излучения. Анализ данных о выходах генетических повреждений показывает «немонотонную» зависимость выхода мутаций от дозы радиации (Зайнуллин, 1998). Например, частота хромосомных аберраций в корневой меристеме прорастающих семян овсянницы луговой, собранных с гамма - поля, оказалась выше по сравнению с контролем, а однако эта зависимость не всегда была монотонной. Частота хлорофильных мутаций среди всходов облучившихся семян, напротив оказалась ниже контрольного уровня. Это может быть связано, как с высоким полиморфизмом данного показателя, типичным для дикорастущих видов, так и с явлением гомозиготации в малых изолированных популяциях (гамма - поле) (Зайнуллин, 1993).

Исследуя линии дрозофил спонтанный уровень доминантных леталий может колебаться (Ватти, 19б5). При относительно низком фоне радиации обнаруживается повышение уровней доминантных леталий (Шевченко, Померанцева 1985).

Хроническое облучение в алых дозах приводит к заметному изменению величины генетического груза. Наряду с увеличением частоты мутаций (летальных, полулетальных) снижающих жизнеспособность, возможно увеличение доли супервитальных мутаций, приводящих к повышению жизнеспособности.

При излучении реакции мышевидных грызунов на хроническое облучение в малых днях показано, что в большинстве случаев характер зависимости «доза - эффект» имеет нелинейных характер и во многом определяется генотипом животного. Это можно наблюдать на полевке-экономке (со стабильным генотипом) виварского содержания, мышевидных грызунов из зоны сильно загрязненной (Зайнуллин, 1998).

Частота выхода мутаций может быть обусловлена разной радиочувствительностью клеток (соматических и половых), а также активностью репарационных систем, стабильностью генома, физиологическим состоянием организма (Шевченко, 199б, Померанцева, 1969).

УФ - лучи и органические перекиси вызывают мутации нуклеиновых кислот (Ауэрбах, 1978).

Существует ряд химических агентов, получивших название «супермутагенов», к которым относятся пестицды, этилметасульфонат, этиленамин и другие (Шварцман, 1973). В сочетании ИИ и супермутагены проявляют либо аддитивный либо синергический эффект, противоположным по действию являются радиопртекторы. Их действие основано на перехвате кванта энергии, электронов, либо образующегося в результате их действия свободного радикала. К этим веществам относятся тиолсодержащие соединения, витамины тиамин и цианобеламин, иденовые соединения. Радиопртекторы снижают вероятность формирования летальных повреждений и уже сформированных потенциально летальных повреждений в следствие стимуляции систем пострадиационного восстановления.

**1.1.2. Биологическое действие гамма-излучения**

Гамма - лучи, возникают в результате радиоактивного распада атомных ядер. Они обладают высокой энергией и могут проникать в ткани. При этом они сталкиваются с атомами, вызывают высвобождение электронов и образование позитивно - заряженных свободных радикалов или ионов. Эти заряженные частицы сталкиваются с другими молекулами, что влечет за собой высвобождение новых электронов. Поэтому вдоль трека высоко - энергетического луча формируется стержень ионов, проходящий в живые ткани. Такая трансформация электронной сети вызывает изменения различных структур в клетке, в частности мембранного комплекса, органелл и ДНК.

Выделяют наиболее радиочувствительные органы клетки, а также внутриклеточные системы и процессы (перекисное окисление липидов, распад ДНК, автолиз белков) (Кудряшов, 1987). Характер повреждений структур зависит от степени сложности - ее пространственной организации.

ДНК - это лабильная, сложная, надмолекулярная четвертичная структура; определяющим фактором в радиочувствительности ДНК является ее пространственная организация в составе хроматина, ее упаковка и связь с клеточными органеллами, с биологическими мембранами,

Биологическим мембранам отводиться любая из основных функций которой является для клетки жизненно - необходимой (барьерная, транспортная, рецепторно - сигнальная, регуляторно - ферментативная). По мере увеличения дозы гамма - излучения наблюдается подавление механизмов активного и пассивного транспорта, нарушается проницаемость ионов калия. (Chapmenn, Stuurrock, 1972, цит. по Кудряшеву), Важным в исследовании биологических мембран является оценка их структурно - функциональных взаимодействий с ДНК. Эта «пара» выступает кабы в виде единой гигантской системы, кооперативно реагирующей на поглощение энергии ИИ, Нарушаются ДЕ1К- мембранные взаимодействия, происходит денатурация и деструкция макромолекул, нарушение их функций в облученных клетках (Владимиров, 1972).

Основным свойством гамма - лучей является их способность разрушать слаженность биологических реакций, их взаимосвязь, порядок, повреждать регуляторные функции системы.

Живая система лишившись «контроля» перестает существовать (Хансон, Комар, 1985).

По мере усложнения биологической организации гамма - лучи способствуют образованию и действию активных радикалов воды и липидов, радиотоксинов, усилению автолитических процессов, нарушению клеточной и нейрогуморальной систем регуляции. (Кудряшов, 1985).

Следует отметить, что гамма - излучение поражает органы, клетки и структуры тесно взаимосвязанные с функциональной активностью, например, радиорезистентных «некритических систем» (нейрогормональной системы, печени, тучных клеток и др.), сохраняющейся в облученном организме в начальный период поражения (Корогодин, 1966).

Наиболее радиочувствительным процессом при гамма - излечении является процесс свободно-радикального перекисного окисления ненасыщенных липидов - липопероксидация (Владимиров, Арчаков, 1972). Гамма - излучения интенсифицирует пероксидацию липидов, в результате образуется избыток липидных токсических веществ, наступает деструкция мембраны (Ясуо Кагава. 1935, цит. по Кудряшову).

Надежность живых систем в отношении поражающего действие гамма лучей обеспечивается активностью защитных ресурсов системы - биогенных аминов, тиолов, гормонов, эндогенных антиокислительных и антирадикальных систем (Гончаренко, Кудряшов, 1980).

**1.2. Влияние тяжелых металлов на наследственные структуры организма**

Тяжелые металлы в последние десятилетия являются одним из самых распространенных факторов загрязнения окружающей среды. В связи с этим назрела настоятельная необходимость на ряд вопросов о степени генотоксической опасности многих веществ, включающих в свои структуры ионы ТМ. Мнения различных исследователей о генетической активности ТМ неоднозначны, поскольку функциональная роль металлов в организме до конца еще не выяснена.

Известно, что физиологическая роль некоторых ТМ обеспечивается их участием в клеточных структурах. Так, наряду с общеизвестными микроэлементами, представляющими атомы Мn, Fе, Ni, Сu, Мо, Zn, и Сr, оказывающих стабилизирующее действие на двойную спираль ДНК, а также играющих важную роль в организации третичной и четвертичной структур хромосом (Уильямс, 1975), возможна и определена роль ТМ в регуляции внутриклеточных процессов, в частности, как было показано Мазиа (Маzia, 1954) (цит. по: Ракин, 1990) кобальт и никель регулируют кроссинговер, препятствуя возникновению структурных нарушений нитей ДHК.

Металлы способны связываться и с белковыми структурами. Так в 1977 году в цитолизосомах кишечного эпителия личинок дрозофилы были обнаружены белковые образования, содержащие ионы меди (Тарр, Носkaday, 1977). Было высказано предложение, что эти протеиды, названные металлотионинами, являются клеточными детоксикантами. Правильность этого предложения была подтверждена в 1987 году, когда было обнаружено резкое снижение концентрации низкомолекулярных комплексов серебра и ртути, вводимых крысам в качестве затравок, под действием медь - и кобальт содержащих металлотионинов (Sugawara, 1987) (цит. по: Ракин, 1990).

По мнению Д. Уильямса (1975), металлы в качестве микроэлементов могут находиться в виде свободных ионов, выполняя регуляторные функции в клетке. Однако Б. Халлиуэл (1987), полагает, что в виде свободных радикалов ТМ появляются в организме крайне редко, причем происходит это в случае разрушения ранее существовавших комплексов и являются в этом виде сильнейшими клеточными ядами.

Действительно, практически все металлы, попадающие в клетку, сразу связываются в органические комплексы, даже находясь в виде нерастворимой соли. Такие ковалентные и координатные комплексы проявляют не только стимулирующую, но и угнетающую активность, которая в основном зависит от атомарной массы и электроположительности катионов металлов (Talukderg, 1987) (цит. по: Ракин, 1990). Резюмируя данные по генотоксической активности различных ТМ можно сделать вывод, что эти вещества, принимая форму органокомплекса, начинают проявлять мутагенные свойства.

Рассматривая механизмы повреждения наследственных структур можно сказать, что под влиянием ТМ происходит повреждения третичной структуры хромосом, что ведет к частичной денатурации ДНК. При связывании двух валентных ТМ с ДНК возможны мутации типа транверсий и транзиций (Лерина, 1972). ТМ могут вызывать хромосомные аберрации, индуцировав точковые мутации, нарушать ферментные взаимодействия, ингибируя отдельные энзимы. При этом соблюдается избирательная блокировка ферментных систем. Каждый из металлов действует в строго определенных структурных точках энзимов, вследствие чего появляется возможность подключить другие ферментные системы, чтобы компенсировать такие взаимодействия. ТМ взаимодействуя с ферментными системами, могут замещать активный центр. ТМ, находясь в цитоплазме, изменяют насыщенность свободными радикалами в сторону их уменьшения.

Ярким примером клеточных изменений является свинец, который обладает гонадотоксическим действием (Харченко, Андреева, 1987). Отмечена способность свинца, обладающего большим сродством к электрону, блокировать поступление в клетку кальция на рубеже внешней клеточной мембраны. Ингибирующее действие свинца на процессе синтеза ДНК и РНК объясняется подавлением им активности, полимераз. Ацетат свинца может индуцировать рецессивные сцепленные с полом летальные мутации (Jacobson - Kram, Montalbano, 1985). Нитрат свинца в малых концентрациях вызывает повышение уровня доминантных и рецессивных летальных мутаций у дрозофилы (Ракин, 1990).

* 1. **Особенности биологического действия инкорпорированных**

**радионуклидов**

Естественные радионуклиды являются химическими токсикантами. Обладают способностью излучать ИИ. Радиотоксический эффект инкорпорированных радиоактивных веществ превышают эффект от внешнего облучения (Рамад, 1981). При попадании радионуклидов в организм, облучение может продолжаться в течении всей жизни. Мощность дозы облучения уменьшается со временем.

Обширные исследования на животных показали, что проявление биоэффектов при инкорпорации радионуклидов, зависят от физических свойств (тип и энергия излучения), дозы, формы вводимого соединения, пути и ритма поступления, особенностей распределения, эффективного периода полураспада, определяющего длительность лучевого воздействия, физиологических и генетических особенностей организма. Например: торий. Период полураспада тория Т=1,39\*1010. Поэтому в большей степени можно говорить о его токсичности, чем о радиационном факторе. Длительный контакт грызунов с природным торием приводит к усилению репаративных процессов в организме, что полностью не компенсирует нарушение физиологического гомеастаза (Верховская и др., 1965). Безусловное значение имеет вид, в котором торий поступает в организм, а именно сопровождающий его анион. Большую биологическую опасность представляют неорганические соединения тория, чем комплексы.

Биоэффекты обычно наблюдаются при накоплении в тканях радионуклидов в дозах, значительно превышающих предельно допустимые в теле человека и животных. С увеличением дозы радионуклидов замедляется регенерация сперматозоидов, уменьшается масса семенников. Такие эффекты проявлялись при введении в организм Се, наблюдалось уменьшение массы семенников крыс на б0% по

сравнению с контролем. Также атрофия семенников у крыс при поражении радионуклидом Сs (Москалев, 1985).

При поступлении в организм НТО с питьевой водой, обнаружены атрофические изменения в семенных канальцах, их потомки имели меньшие размеры тела и были более подвержены инфекции, у них часто развивались инвазионные опухоли кишечника, в основе которых лежали наследственные изменения половых клеток (Mewissen, 1983, по Москалеву, 1991). НТО может индуцировать Д М на постмейотических стадиях сперматогенеза и реципрокные транслокации в сперматогониях.

Гистологически в семенниках крыс после введения плутония выявлены канальцы с нарушенным сперматогенезом и измененным соотношением разных форм клеток. Изменения сперматогенеза в первую очередь относят к системе сперматогония-сперматиды. Начальная стадия сперматогенеза редуцирована, еще более уменьшена генерация сперматоцитов первого порядка. В этих клетках нарушен мейоз, о чем свидетельствует наличие двуядерных сперматоцитов и клеток с крупным ядром. Количество клеток Лейдига увеличена, что является морфологическим выражением дисгормональной перестройки эндокринной части яичек. Мелкоклеточная лимфоцитарная инфильтрация стромы свидетельствует об аутоиммунных процессах в этом органе, завершающихся деструкцией половых клеток, в результате чего нарушатся оплодотворение (Райцина 1985 по Москалеву, 1991).

Особенностью биологического действия инкорпорированных радионуклидов определяется активной ролью организма в формировании тканевых доз из-за наличия транспортных иметаболических процессов, обуславливающих накопление, проявление эффектов, выведение радионуклидов из определенных органов и тканей.

* 1. **Комбинированное действие факторов различной природы на**

**клеточные структуры**

Рассматривая многоклеточные организмы как совокупность взаимосвязанных между собой клеток, находящихся на разных стадиях развития, можно понять важность познания проблемы сочетанного действия факторов различной природы на клеточные структуры. Проблема комбинированного действия факторов физической и химической природы на клеточные структуры в настоящее время актуально с точки зрения радиобиологии и экологии. Исследование эффектов клетки позволит нам сделать выводы о ее состоянии, а следовательно и об организме.

*Сочетанное действие*

*физических и химических факторов*

В представленных научным комитетом ООН по эффектам атомной радиации в отчетах (UNSCEAR, 1982, цит. по Ракину), выделены два класса количественной оценки эффектов сочетанного действия различных факторов: 1. Наблюдаемый эффект вызван действием обоих агентов (ИИ и кофактором). Здесь отмечаются три частных случая сочетанного действия факторов:

а. интегральный эффект равен по значению сумме эффектов раздельно-действующих софакторов (аддитивность);

б. интегральный эффект выражен менее, чем это бы имело место при сложении результатов действия факторов порознь (антагонизм);

в. интегральный эффект превышает по значению сумму эффектов, действующих независимо софакторов (синергизм).

2. Этот класс включает наблюдаемый эффект - результат модифицирования действия одного из агентов другим, неактивным самим по себе. Сюда относятся два варианта с противоположным действием:

а. резкое снижение ИЭ неактивным агентом (протекция);

б. резкое повышение эффекта неактивным агентом (сенсибилизация).

# Комбинированное действие ИИ и физических факторов

Сочетание факторов и их действия на живой объект может носить различный характер. Например, при действии лазерного излучения и гамма - лучей Со на дрожжи S. Сеrеvisae нескольких штаммов отмечен аддитивный характер взаимодействия факторов по выживаемости (Петин, 1987).

В экспериментах, выполненных на Zea mays, при действии на этот объект ультразвука и рентгеновских лучей также обозначен аддитивный эффект. Другие исследователи обнаружили синергизм действия ультразвука и ИИ на клетки кишечной палочки и млекопитающих (Martins е.а., 1977, Graid, 1977). Обнаружившие синергизм, авторы отметили, что если ультразвук вызывает мембранные повреждения, то ИИ - ядерные, то есть синергизм может быть результатом этих двух типов повреждений.

Гипертермия является сенсибилизирующим агентом. Однако клетки млекопитающих более чувствительны к воздействию температуры и ИИ по сравнению с дрожжевыми. Проведенные В.Г. Петиным исследования на диплоидных и гаплоидных штаммах дрожжей E. magnusii, Z. Bceilli, подтверждают вывод о синергичном характере взаимодействия гипертермии и ИИ.

Следует ожидать, что плотно ионизирующие излучения вызывают большую долю необратимых повреждений, чем редко ионизирующие.

## Совместное действие ИИ и химических агентов

Такое действие вызывает разные повреждения в клетке в частности, такая комбинация иприт и рентгеновские лучи дает сходства генетических эффектов так как они действуют непосредственно на мишень, то есть «разрывают>> хромосомы. При взаимодействии ИИ с азотной кислотой происходит в РНК - генах замена оснований. В ДНК спаривание уроцила с аденином приводит к транзиции гуанин - цитазин на аденин - тимин (Ауэрбах, 1978), так же азотная кислота может индуцировать делеции, так как она способствует поперечному сшиванию двух цепей ДНК (Schuster, 1960, цит. по Ауэрбаху).

УФ - лучи и органические перекиси вызывают мутации нуклеиновых кислот (Ауэрбах, 1978).

Существует ряд химических агентов, получивших название «супермутагенов», к которым относятся пестициды, этилметасульфонат, этиленамин и другие (Шварцман, 1973). В сочетании ИИ и супермутагены проявляют либо аддитивный либо синергический эффект, противоположным по действию являются радиопртекторы. Их действие основано на перехвате кванта энергии, электронов, либо образующегося в результате их действия свободного радикала. К этим веществам относятся тиолсодержащие соединения, витамины тиамин и цианобеламин, иденовые соединения. Радиопртекторы снижают вероятность формирования летальных повреждений и уже сформированных потенциально летальных повреждений в следствие стимуляции систем пострадиационного восстановления.

**1.5. Заключение**

# Мутагенчувствительность сперматогенных клеток

Исследования генетических эффектов в процессе гаметогенеза, индуцированного радиацией, позволили определить радиочувствительность разных стадий этого процесса.

При изучении разных видов генетических повреждений (ДЛМ, РЛМ, ПЛМ) было обнаружено, что у самцов мышей половые клетки находящихся на разных стадиях сперматогенеза, располагаются по мере возрастания генетической радиочувствительности в следующем порядке: сперматогонии, сперматоциты, сперматозоиды, сперматиды (Померанцева, Рамайя, 1969).

Причины различной генетической радиочувствительности половых клеток, находящихся на разных стадиях гаметогенеза, еще окончательно не ясны. Результаты исследований позволили предположить, что эти причины обусловлены комплексом факторов: особенностями метаболизма клеток, степенью конденсации хромосом, уровнем насыщения клеток кислородом, относительной продолжительностью стадий ядерного цикла, чувствительностью к летальному эффекту радиации, количеством радиозащитных веществ в цитоплазме, интенсивностью работы системы репарации (Шапиро, 1964).

Сперматозоиды более чувствительные, чем оогонии, т.к. несут генетическую информацию и накапливают генетический груз. В оогониях меньше нарушений, т.к. они сразу закладываются в организме в определенном количестве и более защищены природой. Сперматозоиды являются основным вкладчиком изменчивости. В них часто возникают мутации нейтральные, но бывают неблагоприятные. Поэтому они менее конкурентоспособные при проникновении в яйцеклетку (Ватти, Тихомирова, 1976).

На радиочувствительность половых клеток большое влияние могут оказывать биохимические преобразования, происходящие в процессе гаметогенеза. Так, в сперматидах происходит замещение муцинбогатого гистона соматического типа новым типам гистона, характеризующимся высоким содержанием аргинина (Кузин, 1973).

В половых клетках самцов мышей, подвергшихся воздействию мутагенов или рентгеновских лучей, уровень диссоциации ДНП и денатурации ДНК снижается по мере трансформации сперматогониев в спермоциты и спермии. Эти изменения сопровождаются упрочнением нуклеопротеидного комплекса. (Стаканов, 1977).

При воздействии хемотерапевтических препаратов мутации проявляются в сперматогониях, т.к. они более чувствительны. Клетки на более поздних стадиях развития, когда находятся в процессе мейотического деления более резестентны. Слабо пролеферирующие стволовые сперматогонии проявляют среднюю чувствительность (Messtrich, 1984).

Стволовые сперматогонии при воздействии малых доз гамма-излучений от 0 – 8 Гр являлись в 6 раз более резистентными, чем клетки костного мозга у хомячка.

Таким образом механизмы мутагенного действия ИИ и ТМ на генетические структуры биологических объектов носят различный характер. Нарушения наследственного аппарата при действии этих веществ порознь, как правило, имеют различную природу, однако, механизмы репарации таких повреждений едины, и выход мутаций обусловлен именно способностью клетки компенсировать вред, нанесенный мутагенами. При сочетанном действии ТМ и ИИ часто вступают в силу эффекты протекции и сенсибилизации. При этом большое значение имеют дозы и концентрации (их соотношение) действующих совместно факторов (Витвицкий и др., 1996). В целом же досконально механизмы взаимодействия мутагенов не выяснены.

**2. Материалы и методы**

Для работы использовали мышей линии СВА в возрасте 3 – 3,5 мес. Нитрат свинца и тория в концентрациях 0.03, 0.1, 0.3 г/кг веса (в пересчете на содержание иона свинца Pb2+ и тория Th4+ вводили самцам с питьем и облучали гамма-излучением 1,8 Гр в течении месяца.

По истечении 30 суток после снятия воздействия (продолжительность сперматогенеза у мыши – 35 суток) по 5 самцов из каждой группы отсаживали индивидуально с 4 - 5-ю одновозрастными интактными самками для определения уровня ДЛМ. Через 16 – 18 дней после начала спаривания осуществляли забой самок и подсчет желтых тел в яичниках, а также живых эмбрионов и резорбций в матке. По процентному соотношению этих показателей определяли эмбриональную смертность:

* ранние доминантные летали (РДЛ) = сумма эмбрионов и резорбций / количество желтых тел.,
* поздние летали (ПДЛ) = количество резорбций / количество желтых тел.,
* общая эмбриональная смертность (ДЛМ) = количество эмбрионов / количество желтых тел.

По 10 самцов через 35 суток после снятия воздействия забивали для определения уровней АГС. При приготовлении использовали стандартную методику (Soares et al., 1979) в модификации А.О. Ракина: эпидидимус самца измельчали на часовом стекле в 2-3 каплях физраствора, затем прибавляли 2-3 капли 10%-го воднорастворимого эозина, после чего пипеткой отделяли эмульсию и переносили ее на препаровальное стекло, распределяли по нему и высушивали при комнатной температуре. Готовый препарат анализировали под микроскопом, подсчитывали количество аномалий в выборке из 500 спермиев.

Статистическую обработку данных проводили с применением стандартного пакета программ "Microsoft Excel – 7", для определения достоверности различий использовали критерий малых доз Фишера (Плохинский, 1980).

**3. Результаты и обсуждение**

Исследование генотоксической эффективности ионов свинца, вводимых в организм в субвитальных концентрациях (1 – 10% ЛД50/30) (Левина, 1972), было сосредоточено на наиболее уязвимой стадии сперматогенеза – этапе формирования сперматоцитов (померанцева и др., 1988). В этом отношении сроки тестирования ДЛМ и АРГ должны обеспечивать детекцию мутационных событий, имеющих сходные механизмы реализации (Мендельсон, Сергеева, 1990). Необходимо отметить, что применяемые нами концентрации нитрат-иона не являются мутагенными (Ракин, 1990), что позволяет рассматривать в качестве генотоксического фактора только содержащийся в соединении свинец.

**Доминантные летальные мутации.** Поскольку доимплантационная (ранние доминантные летали) (РЛД) и постимплантационная гибель эмбрионов (поздние доминантные летали) (ПДЛ), как правило являются результатом нарушения различных наследственных механизмов, то мы сочли необходимым разделить их на анализ.

1). В таблице 1 и на рисунке 1 представлены результаты определения уровней РДЛ, ПДЛ и суммарных леталей (ДЛМ) у групп самцов, подвергнутых затравке свинцом в различных концентрациях. Как из представленных данных, РДЛ в 1-м, 3-м и контрольном вариантах показатели опыта практически не отличаются. Исключении составляют результаты анализа этих параметров в варианте 2, частота РДЛ. В этом случае достоверно ниже таковой в контроле (Р<0,001). Поскольку физиологическое состояние интактных самок, использованных в эксперименте было одинаковым, то можно предположить, что у самцов из варианта 2 происходит снижение оплодотворяющей способности спермиев или внесение в зиготу таких нарушений генома, которые препятствуют дроблению яйца (Шевченко, Померанцева, 1985). Таким образом, по критерию РДЛ генетически эффективной оказалась концентрация свинца 0,1 г/кг.

При анализе ПДЛ, являющихся по мнению многих исследователей истинными доминантными леталями (Ватти, 1965; Мендельсон, Сергеева, 1990; Ракин, 1990; Померанцева, Рамайа, 1993; и др.), была обнаружена тенденция снижения эффекта по мере роста концентрации свинца. Наименьшая частота ПДЛ зафиксирована в варианте 1 (5,7%), а наибольшая – в варианте 3 (12,1%) (Р<0,05). при этом значения леталей в контроле не имеют достоверных различий с данными, полученными при анализе результатов каждого отдельно взятого варианта опыта. Можно отметить, что генотоксичность минимальной концентрации затравки больше, чем максимальной, а по отношению к контролю эффективность свинца (по критерию ПДЛ) несущественна.

При рассмотрении суммарных значений ДЛМ прослеживается дозовая динамика нарушений, схожая с таковой РЛМ, когда концентрация свинца 0,1 г/кг индуцирует статистически достоверно меньше повреждений, чем при спонтанном мутагенезе (Р<0,05). Повышение частоты ДЛМ в вариантах 1 и 3 по сравнению с контрольным значением параметра не достоверны.

Подобные нелинейные эффекты выхода генетических нарушений были весьма показательны и в других исследованиях (Петин, 1997; Гераськин, 1996). В нашем случае при концентрации свинца в интервале от 0,03 до 0,1 г/кг, вероятнее всего был превышен "порог поражаемости" для типа нарушений, влекущих за собой формирование ДЛМ (реципрокные транслокации и крупные хромосомные аберрации) (Шевченко, Померанцева, 1985). При дальнейшем повышении концентрации затравки репаративные системы уже не справлялись с возрастающим количеством мутационных событий, что привело к повышению уровня нарушений.

2). При гамма-излучении животных выявлено значительное увеличение уровней эмбриональной смертности (на всех этапах) по сравнению с контролем (Р<0,001) (см. Табл. 3 и рис. 3). Это явно свидетельствует о высокой мутагенной активности ИИ данной интенсивности. Очевидно, что репаративные системы клеток не способны были полностью компенсировать повреждающее действие гамма-излучения.

3). Комплексное воздействие ИИ в дозе 1,8 Гр и свинца в концентрациях 0,3 и 0,1 г/кг (см. Табл. 3 и рис. 3) выявило значительный генотоксический потенциал сочетаний данных мутагенов по критериям РДЛ и ДЛМ (Р<0,05). В то же время результаты обработки мышей свинцом в концентрации 0,03 г/кг в совокупности с гамма-облучением позволяют сделать вывод о низкой мутагенной активности данного сочетания воздействующих факторов. Таким образом можно с уверенностью сделать вывод, что "порог поражаемости" сперматогониев меньшей по критериям РДЛ и ДЛМ при воздействии гамма-излучения в дозе 1,8 сГр находится в промежутке концентраций свинца 0,1 и 0,03 г/кг. Анализ уровней ПДЛ во всех вариантах комплексной обработки мышей не выявил статистически достоверных различий с частотой этих нарушений в контрольной группе, что позволяет сделать заключение о низкой генетической эффективности сочетанной затравки при индукции постимплантационной гибели.

Исследование монотонностей дозовых зависимостей выхода РДЛ н ДЛМ однозначно свидетельствует об их линейном характере (r рдл = 0,9011 (P<0,01); r длм = 0,9468 (р<0,001)). В случае же анализа ряда ЛДЛ прямая дозовая зависимость не прослеживается (r = 0,1491). Таким образом, можно с уверенностью сделать вывод о том, что индуцируемые комплексом комутагенов ПДЛ не зависят от затравки в данном диапазоне концентраций свинца и при указанной дозе гамма-излучения.

Нами был произведен расчет коэффициентов сочетанного действия (Ракин, 1991) по формуле:

S = (Q-q)/Q, (Q = m + l – (nM + nL); q = k – nK),

где m, l и k - значения параметра при действии соответственно факторов М, L и М+L, а nM, nL и nK - спонтанные уровни. Необходимо отметить, что применение формулы не корректно в случае Q ≈ 0, как и при значеяиях m, l и k близких n. Расчет значений S с неприменением регрессионного анализа позволяет выделить "интервал аддитивности", в который не попадают данные, отражающие антагонистические (< 0) или синергические эффекты (> 0).

Данные, представленные в Таблице 3 свидетельствуют, в основном об антагонистическом и аддитивном эффектах сочетанного действия обозначенных факторов. Исключение составляет вариант обработки мышей облучение + 0,1 г/кг Рb по критерию РДЛ, где прослеживается явный синергический эффект. Индукция же ПДЛ во всех случаях комплексной обработки имеет антагонистический характер. Таким образом можно заключить, что истинный показатель генотоксичности сочетаний гамма-облучения и указанных концентраций свинца – постимплантационная гибель эмбрионов – снижается при комплексном воздействии мутагенов, в отличии от вариантов их раздельного на сперматогонии мышей. Это согласуется с данными других исследователей (Витвицкий и др., 1996). То есть, предположительно, "включение" механизмов репарации более высокого уровня обеспечивает более низкий уровень выхода генетических нарушений.

В таблице 2 (рис. 2) представлены частоты РЛМ, ПЛМ и ДЛМ у групп самцов подвергнутых затравке торием и гамма-облучением.

Уровни РЛМ статистически достоверно превышали контрольные значения, как видно на иллюстрациях, при максимальных и минимальных нагрузках при обработке животных γ-излучением и торием порознь (P<0.01). Максимальная степень воздействия индуцировала возникновение практически схожих частот леталей (17,6 и 17,4% соответственно) при обработке торием в совокупности с облучением в дозе 1,8 сГр (P<0,05). При анализе дозовой зависимости выходы нарушений по критерию РЛМ во всех вариантах эксперимента не наблюдали линейного характера, что подтверждается статистическими методами. Однако, некоторая схожесть дозовых динамик нарушений была выявлена при попарном анализе частот РЛМ при раздельной обработке мышей ИИ и торием (r = 0.881±0.10), при воздействии радиации и тория в совокупности с облучением в дозе 1,8 сГр (r = 0,8387 ± 0,09) и при сравнении результатов затравки торием и торием в сочетании с облучением в дозе 1,8 сГр (r = 0,8785 ± 0,07) (во всех случаях P < 0,01). Если принять во внимание, что схожесть дозовых динамик была отмечена при сопоставлении частот АГС, индуцированных воздействием тория и тория в сочетании с облучением в дозе 1,3 сГр (см. выше), то в данном случае можно говорить о том, что при затравке торием и минимальной радиационной нагрузке отмечается синхронность в процессах формирования повреждений генного характера, реализуемых в АГС и РЛМ.

Постимплантационные потери чаще встречаются при средних и малых стрессирующих нагрузках. Исключение составляет статистически превышающий спонтанный уровень показатель параметра при затравке торием в совокупностью с γ-облучением в дозе 1,8 сГр (11,1%; Р <0,01). В случаях обработки мышей по отдельности торием или свинцом, а также свинцом и ИИ значимых превышений контрольных параметров не отмечено. Возможно при γ-облучении в малых дозах «порог чувствительности» генеративных клеток на коком-то этапе оказался ниже дозы 1,8 сГр, и при достижении максимальной радиационной нагрузки «включился» механизм репарации повреждений более высокого уровня.

По критерию ПЛМ не было отмечено монотонной линейной дозовой зависимости. Проведенный же корреляционный анализ выявил схожесть дозовых динамик выхода нарушений при сравнении таковых в варианте при затравке торием и торием в сочетании с γ-облучением в дозе 1,8 сГр (r = 0,7799±0,05; Р < 0,05), что было выявлено при аналогичном сопоставлении частот РЛМ (см. Выше).

**Аномальные головки спермиев**. Анализ частот, индуцированных различными концентрациями свинца, структурных нарушений строения спермиев представлен в таблице 3 и на рисунке 3. Как и в случае исследования уровней ДЛМ, четкой дозовой зависимости выхода нарушений нет. Однако, в отличии от картины от картины, наблюдаемой при анализе ДЛМ, частоты АГС, индуцированные даже самой малой концентрацией токсиканта значительно превышают контрольный уровень (P < 0,001). Это явно свидетельствует о высокой генотоксичности свинца при возникновении точковых мутаций, мелких делеций и соматических нарушений в организме, реализующихся в виде АГС (Шевченко, Померанцева, 1985). Минимальное статистически достоверное отличие уровней АГС в 3 - м и 2 - м вариантах может свидетельствовать о том, что "порог поражаемости" и "репаративная емкость" компенсаторных систем были превышены при концентрациях меньших, но достаточно близких к таковой в варианте 3.

Таким образом, наши исследования показали, что свинец не индуцирует (в этих низких концентрациях ) "крупных хромосомных аберраций". В то же время, свинец является весьма генотоксичным в отношении индукции точковых мутаций и мелких делеций. Анализируя соотношение данных по детекции АГС и ПЛМ, нужно заметить, что существует статистически достоверная (Р < 0,05) корреляция между этими параметрами:

r = 0.721±0.03 что может свидетельствовать об однонаправленности процессов компенсации упомянутых генетических повреждений. В связи с этим можно предположить, что свинец является эффективным мутагеном в исследованном градиенте концентраций по критерию маломаштабных генетических повреждений, результатом чего в итоге являются ПЛМ и АГС (соответственно в меньшей и большей степени) ( Шевченко, Померанцева, 1985; Харченко, Андреева, 1987).

Одновременно следует отметить, что именно в выбранном диапазоне концентраций не наблюдается статистически достоверных коэффициентов регрессами, что указывает на отсутствие прямых дозовых зависимостей выхода генетического эффекта по всем исследованным параметрам. И если по критерию АГС можно смело утверждать, что "порог чувствительности" находится ниже минимальной концентрации свинца, по критерию ДЛМ как раз в промежутке для 1-го и 3-го вариантов эксперимента.

В табл. 4 и на рис. 4 представлены результаты подсчета частот АГС во всех обследованных группах. Значительное превышение опытных и контрольных уровней данного параметра при раздельных облучении и затравке торием может быть объяснено некоторой генетической нестабильностью генотипа лабораторной популяции мышей в момент проведения эксперимента. В целом необходимо отметить статистически значимое превышение спонтанного уровня нарушений (Р < 0,05) во всех опытных группах при сочетанной обработке грызунов торием γ-облучением в дозе 1,8 сГр, а также при затравке свинцом. Максимальные дозы явились генетически эффективными при сочетанном действии тория и облучения во всех вариантах, а также при комплексной обработке животных свинцом и радиацией. Случаи статистически достоверного превышения этого параметра под воздействием на объекты минимальных доз отмечены при раздельном γ-облучении, при затравке торием с сопутствующей радиоактивной нагрузкой в дозе 1,8 сГр и при комплексной обработке мышей свинцом и γ-излучением.

Отсутствие линейной дозовой зависимости при воздействии на биологические структуры малых доз мугагенов отмечено многими авторами (Кузин, 1991; Спитковский, 1992; Бурлакова, 1994; и др.). Поэтому внешнее отсутствие эффекта при более мощных воздействиях может быть объяснено различными точками зрения на характер выхода нарушений. Вполне пригодна для объяснения такого рода явления концепция поэтапного включения репаративных систем в клетке, подвергнутой стрессирующему воздействию внешних факторов (Зайнуллин, 1988; Спитковский, 1992). Это может свидетельствовать об адекватной реакции репаративных клеточных структур на дополнительное радиационное воздействие. В данном случае можно сделать предположение, что при сочетанном действии γ-излучения и тория при средней концентрации металла был превышен порог чувствительности к стрессору «n-го» порядка ( < 0,03 г/кг), но не достигнут порог порядка «n+1» (0,1 г/кг).

Природа нарушений, приводящих к изменению формы головок спермиев выяснена недостаточно четко. Имеются данные, что повышение частоты АГС у мышей не связаны с реципрокными транслокациями или крупными хромосомными аберрациями, а обусловлено точковыми мутациями или мелкими делециями, а также соматическими повреждениями в организме (Шевченко, Померанцева, 1985). Исходя из этого АГС - результат нерепарированных генных повреждений, которые далеко не в полной мере скринируются при контроле качества наследственного материала цитогенетическими методами и. соответственно вносят существенный вклад в нарастание генетического груза в популяциях.

В таблице 5 (рис. 5) представлены значения коэффициента S, расчитанные для всех критериев оценки ген-эффекта.

Как видно из иллюстраций, основной массив данных имеет отрицательное значение коэффициента, что явно говорит о тенденции к демонстрации антагонистического эффекта. В то же время, учитывая, что расчетный «интервал аддитивности» составил -0,71...+ 0,71, то с уверенностью говорить об антагонистическом характере взаимодействия металла и ИИ в нашем случае можно лишь при рассмотрении вариантов комплексной затравки торием и облучением в дозе 1,8 по критериям эмбриональной смертности, где все значения S ниже «порога» аддитивности. В остальных случаях отмечены как аддитивные, так и антагонистические эффекты, причем, как правило, не позволяющие вывести закономерных связей по критерию «доза-эффект». В целом же необходимо отметить как более информативные группы данных значения S, рассчитанные для АГС и эмбриональной смертности, в которых выше регистрируемая доля аберрантных событий. С уверенностью можно говорить, что минимальные концентрации свинца и тория в сочетании с внешним облучением по указанным выше критериям вызывают антагонистический эффект, свидетельствующий о том что в уровни комбинированного стресса не превышают репарационных возможностей стабилизирующих геном систем данного уровня, что, как правило происходит при превышении концентрации ТМ и ТЕРН 0,03 г/кг.

Поведение свинца и тория в организме, и в частности при их воздействии на генеративные структуры, различно, но в силу их некоторого химического сродства возможна компенсация их генотоксического воздействия одними и теми же репаративными системами. Кроме того необходимо отметить, что слабая интенсивность α- и γ-излучений тория в таких субвитальных концентрациях вряд ли может быть причиной биологического эффекта (Blaylock, Shugart, 1972). Вероятно, интерпретация данных была бы более корректна и информативна при расширении градиентов доз и концентрации в эксперименте.

**4. Выводы**

1. В большинстве вариантов обработке мышей мутагенами отсутствует прямая дозовая зависимость. За исключением воздействий свинца и облучения 1,8 сГр по критерию РЛМ и при воздействии тория и облучения 1,8 сГр;
2. сочетанное действие факторов характеризуется либо аддитивным, либо антогонистическим действием практически по всем критериям оценки генетического эффекта;
3. концентрации тория и свинца 0,03 г/кг в сочетании с внешним γ – облучением вызывают антогонистический эффект при оценке уровней АГС и эмбриональной смертности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир. 1978. С. 253-335.
2. Ватти К.В. О зависимости частоты мутации от дозы облучения в связи с чувствительностью примейотических и постмейотических стадий сперматогенеза // Генетика. 1965. №4. С.94-99.
3. Ватти К.В., Тихомирова М.М. Адаптация и мутагенез // Радиационный мутагенез и его роль в эволюции и селекции. М. 1987. С.127-141.
4. Ватти К.В., Тихомирова М.М. Спонтанные и индуцированные радиации ДЛМ у самок и самцов дрозофилы // Исследования по генетике. Л.: ЛГУ. 1976. вып.6. С. 32-44.
5. Верховская А.И. Радионуклиды в организме. М. 1988. С. 20-44.
6. Витвицкий В.Н., Бахитова Л.М., Соболева Л.С., Шевченко В.А. Модификация мутагенных эффектов гамма-излучений солями тяжелых металлов // Известия РАН. Серия биологическая. 1996. №4. С.495-498.
7. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. 1972. С. 20-35.
8. Гончаренко Е.И., Кудряшов Ю.Б. Химическая защита от лучевого поражения. М. 1985. С. 24-37.
9. Жестянников В.Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение. Л. 1979. 285 с.
10. Зайнулин В.Г. "Доза-эффект" в исследовании эффектов малых доз радиации // Радиочувствительность растений и животных биогеоценозов с повышенным естественным фоном радиации. Сыктывкар. 1988. 93 с.
11. Корогодин В.И. Проблемы пострадиоционного восстановления. М. 1966. С. 50-60.
12. Кудряшов Ю.Б. Лучевое поражение. М. У. 1987. С. 48-60.
13. Кузин А.М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра. М. 1973. 208 с.
14. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. Л.: Медицина. 1972. 221 с.
15. Ли Д.Е. Действие радиации на живые клетки. М. 1963. 288 с.
16. Лобашев М.Е Физиологическая гипотеза мутационного процесса // Вестн.ЛГУ 1947. Т.8. №1. С.10-29.
17. Мендельсон Г.И., Сергеева А.С. Исследования генетической детерминированности ДЛМ у дрозофил // Генетика. 1990. Т. 26. №6. 1019 с.
18. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия ионизирующего излучения. М.: Медицина. 1991. 300 с.
19. Москалев Ю.И. Современные представления о действии ионизирующего излучения на млекопитающих и проблемы нормирования // Медицинская радиобиология. 1985. №6. С. 66-72.
20. Петин В.Г. Генетический контроль модификации радиочувствительности клеток. М. 1987. 125 с.
21. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. М.: МГУ. 1980. 150с.
22. Померанцева М.Д., Рамайа Л.К. Мутагенный эффект излучений разных видов на полове клетки самцов мыши // генетика. 1969. Т.5. №5. С. 103-112.
23. Померанцева М.Д., Рамайя Л.К. Генетический эффект инкорпорированного Cs у самцов мыши у однократном введении изотопа // Радиобиология. Наука. 1993. Т.33. № 1(4). 564с.
24. Ракин А.О. Хроническое действие тяжелых естественных радионуклидов и металлов на генетическую структуру популяций дрозофилы: Дисс… канд. биол. наук. Сыктывкар. 1990. 146 с.
25. Рамайя Л.К., Померанцева М.Д. Изучение мутагенного действия кадмия на половые клетки самцов мыши // Генетика. 1977. Т.13. №1. 89с.
26. Спитковский Д.М. // Радиобиология 1992. Т. 32 вып. 3. С.382-400.
27. Стаканов В.А. Влияние ионизирующей радиации на ДНП и ДНК клеток семеника: Авторефера дис.б.н. Медицина: ин-т биофизики АН СССР. 1972. С. 29.
28. Хансон К.П., Комар В.Е. Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток. М. 1985. С. 6-14.
29. Харченко Т.Н., Андреева С.К. Гонадотоксическое действие ацетата свинца в эксперименте на белых крысах // Доклад АН УССР. 1987. Т. 6. № 5. 81с.
30. Шапиро И.И. Генетическое действие малых доз. М.: Наука 1964. С. 131-188.
31. Шварцман П.Я., Анисимов А.И. Изучение механизма инактивации и мутагенеза при действии этилена на половые клетки Drosophila melanogaster. Частота ДЛМ при хранении обработанных сперматозоидов // Генетика. 1973. Т. 9. №3. С. 76-83.
32. Шевченко В.А. Оценка генетического риска облучения популяции человека // Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье человека / Под ред. Е.Б. Бурлаковой. М. 1996. С. 50-67.
33. Шевченко В.А., Померанцева М.Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. Наука. 1985. 57с.
34. Adler I.D. Jem-cell sensitet: ly:n mammals // Prog. cein Biol. Res. 1982. 109. P. 137-148.
35. Craig A.T., Tuler J.M.R. Combiner Vitragonic and gamma-irradiation of E.Coli // I bid. 1997 V. 22. N 15. P. 415-430.
36. Hesstrich M.L. Biomet Phanmacother. Stage-specificsensitivity of spermatogonia to different chematherapeufic drups. 1984. P. 132-142.
37. Kristiansen P., Eilertsen S., Einarsdottir E., Overbo S. Effect modification by inorganic lead in the dominant lethal assay. // Mutat.Res. 1993. V.302. N 1. P. 33-38.
38. Martins B.J., Raju M.E. Survival of cuitured mamalian cells exposet to ultrasount // Radiat. Environm. Biopbus. 1977. V2, №3. P.243-250.
39. Soares E.R., Sheridan W., Segall M. Increased frequencies of aberrant sperm as indicators of mutagenic in mice // Metal. Res. – 1979. – V.64, №1. – P.27-35.