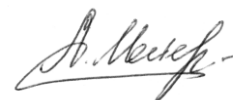


На правах рукописи



МЕЙЕР АЛИНА ВИКТОРОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА К ВОЗДЕЙСТВИЮ
ИЗЛУЧЕНИЙ РАДОНА В БЫТОВЫХ УСЛОВИЯХ**

03.01.01 – Радиобиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва - 2013

Работа выполнена на кафедре генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Кемеровский государственный университет»

Научный руководитель: **Дружинин Владимир Геннадьевич**,
доктор биологических наук, профессор, заведующий
кафедрой генетики Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего
профессионального образования «Кемеровский
государственный университет»

Официальные оппоненты: **Сычева Людмила Петровна**,
доктор биологических наук, профессор,
руководитель лаборатории генетического мониторинга
ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены
окружающей среды им. А.Н. Сысина» Минздрава РФ

Сальникова Любовь Ефимовна,
доктор биологических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории экологической генетики
ФГБУН «Института общей генетики
им. Н.И. Вавилова» РАН

Ведущая организация: ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский
биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА
России, г. Москва

Защита состоится «19» декабря 2013 г. в «15» часов на заседании
диссертационного совета Д501.001.65 при МГУ им. М.В. Ломоносова по адресу:
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ им. М.В. Ломоносова,
кафедра биофизики биологического факультета, ауд. 389.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ
им. М.В. Ломоносова по адресу: Ломоносовский проспект, д. 27, 8-й этаж, к. 812.
Отзывы просим присылать Веселовой Т.В. по адресу: 119991, Москва, Ленинские
горы, д. 1, стр. 12, МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра биофизики
биологического факультета. Факс: +7(495)939-11-15 (2 экз. в бумажном варианте
с печатью и подписью обязательно).

Автореферат разослан «15» ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук

Т.В. Веселова

Актуальность исследования. Согласно современным представлениям, индивидуальная радиочувствительность (ИРЧ) имеет мультифакторную природу и в значительной степени определяется генетическими особенностями [Hu et al., 2001; Barnett et al., 2009]. К группе кандидатных генов ИРЧ относят гены репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, метаболизма ксенобиотиков, индукции механизмов радиозащиты и др., обеспечивающих стабильность генетического материала [Гончарова и др., 2003; Рубанович, 2007; Au et al., Fucic et al., 2008]. Оценку значимости полиморфизма вышеуказанных генетических систем в формировании признака радиочувствительности принято выполнять путем анализа ассоциаций полиморфных вариантов генов с радиационно-индуцированными эффектами, характеризующими степень ИРЧ [Kiuru et al., 2005; Rossi et al., 2009; Сальникова и др., 2010; Abilev et al., 2011; Васильева и др., 2012; Литвяков и др., 2013]. Однако на сегодня по ряду причин имеющиеся в литературе данные по установленным молекулярным маркерам радиочувствительности человека противоречивы и неоднозначны [Salnikova et al., 2012].

Другая проблема изучения радиочувствительности связана с необходимостью поиска специфических биомаркеров генотоксического эффекта ионизирующей радиации (ИР) на клеточном уровне. Выбор таких маркеров должен определяться типом радиации и мишенью воздействия. В настоящее время радиационно-специфическим методом индикации биологических эффектов ИР является анализ хромосомных aberrаций (ХА), а именно дицентрических и кольцевых хромосом в лимфоцитах человека [WHO, 1993]. Вместе с тем анализ микроядер и иных типов кариологических повреждений в эпителиальных клетках человека может быть удобным инструментом в оценке гено- и цитотоксических эффектов ИР определенного типа – излучений радона и дочерних продуктов его распада, занимающих ведущую позицию среди естественных источников облучения. В частности, клетки буккального эпителия являются первичными мишенями воздействия газообразного радона, преимущественно попадающего в организм человека через дыхательные пути. Микроядерный анализ в буккальных эпителиоцитах признан экспресс-методом выявления мутагенной активности веществ различной природы [Полиорганный микроядерный.., 2007], техническая составляющая метода стандартизирована на международном уровне [Holland, 2009]. Кроме того, данная тест-система позволяет оценить не только кластогенные и анеугенные события, но и охарактеризовать соотношение основных жизненных процессов – пролиферации, деструкции и уровень цитогенетических повреждений в зависимости от клеточной кинетики [Сычева, 2011].

К настоящему времени цитогенетическими методами установлены кластогенные эффекты воздействия высоких доз излучения радона для различных групп шахтеров

[Smerhovsky et al., 2002; Wolf et al., 2004; Bilban, Jakopin, 2005]. Сведения об эффектах излучений радона в бытовых условиях немногочисленны и противоречивы [Cole et al., 1996; Vauchinger et al., 1996; Lindholm et al., 1999]. Тем не менее, в ряде исследований была показана эффективность использования рутинных цитогенетических тестов при оценке ХА в лимфоцитах после воздействия сверхнормативных концентраций радона в воздухе жилых или общественных помещений [Bilban, Vaupoti, 2001; Oestreicher et al., 2004]. В результате многолетнего исследования когорты воспитанников школы-интерната г. Таштагол Кемеровской области, подверженной хроническому воздействию сверхнормативных доз излучений радона и продуктов его распада, в лимфоцитах крови экспонированных детей и подростков было выявлено достоверное увеличение частоты ХА относительно контрольной популяции [Дружинин и др., 2009].

Таким образом, анализ современного состояния исследований показывает наличие нерешенных проблем в области изучения наследственных факторов чувствительности генома человека к ИР в целом и к излучению радона в частности и одновременно подчеркивает актуальность и перспективность таких работ. Актуальность, научная и практическая значимость указанной проблемы в целом обусловлена значительным (более 50 %) вкладом радона в общую структуру облучения, получаемого населением от природных источников; наличием большого числа локальных групп населения, вынужденных проживать в радоноопасных условиях; доказанными канцерогенными и генотоксическими эффектами радона в профессиональных когортах; недостаточностью данных о закономерностях реагирования буккальных эпителиоцитов детей и подростков на воздействие сверхнормативных доз ионизирующих излучений радона; фрагментарностью и противоречивостью экспериментальных данных по изучению роли молекулярного полиморфизма для формирования индивидуальной радиочувствительности; необходимостью поиска молекулярно-генетических маркеров радиочувствительности, значимо ассоциированных со степенью повреждений генома в условиях хронического воздействия сверхнормативных доз излучений радона и продуктов его распада.

Цель исследования. Исследовать гено- и цитотоксические эффекты как показатели чувствительности клеток буккального эпителия детей и подростков, хронически экспонированных излучением радона в условиях проживания и обучения; оценить значение полиморфизмов генов биотрансформации ксенобиотиков и репарации ДНК как возможных факторов наследственной индивидуальной радиочувствительности.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить комплекс радиационных и химических параметров окружающей среды в местах проживания и обучения детей и подростков опытной группы.

2. С помощью микроядерного теста дать характеристику частоты и спектра кариологических нарушений в клетках буккального эпителия (с учетом половозрастной, этнической принадлежности, заболеваемости, вредных привычек) для группы детей и подростков, экспонированных радоном, и для контрольной группы.

3. Оценить прогностические возможности показателей микроядерного теста для идентификации длительного воздействия повышенных доз радона.

4. Исследовать ассоциации аллельных вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков и репарации ДНК с прогностически эффективными показателями микроядерного теста.

5. Оценить значимость сочетаний аллельных вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков и репарации ДНК для формирования признака радиочувствительности человека к хроническому воздействию излучений радона и продуктов его распада.

Положения, выносимые на защиту:

– Идентификация генотоксических и цитотоксических эффектов хронического воздействия сверхнормативных доз излучений радона в бытовых условиях может осуществляться с использованием микроядерного теста в буккальных эпителиоцитах.

– В условиях воздействия ионизирующей радиации уровень кариологических нарушений в клетках эксфолиативного эпителия ассоциирован с генетическим полиморфизмом генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков (GSTP1 rs1138271, rs1695) и репарации ДНК (XRCC1 rs25487, XRCC4 rs2075685, XpD rs13181, XpG rs17655, ADPRT rs1136410).

Научная новизна. Впервые проведена оценка цитотоксических и генотоксических эффектов хронического воздействия повышенных концентраций радона с использованием микроядерного теста в буккальных эпителиоцитах. Показано, что данный тест является чувствительным к воздействию излучений радона в бытовых условиях. Впервые изучена и показана значимость полиморфизмов генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков в формировании признака радиочувствительности с использованием микроядерного теста в буккальных эпителиоцитах.

Практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы для скрининговых исследований популяций человека, подверженных длительному воздействию сверхнормативных концентраций радона в бытовых и производственных условиях. Результаты работы служат основанием для разработки рекомендаций по снижению генотоксического риска в когортах населения радоноопасных регионов.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования получены в рамках выполнения НИР по грантам РФФИ: 10-04-00497-а, 12-04-32218 мол_а; государственного контракта ФЦНТП №16.512.11.2062. Результаты

цитогенетического исследования включены в мировую базу данных «The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN_{XL})». Федеральной службой по интеллектуальной собственности и товарным знакам зарегистрирована заявка на изобретение «Способ оценки индивидуальной чувствительности генома человека к воздействию повышенных доз излучений радона и продуктов его распада» (№ 2012118311, приоритет от 03.05.2012).

Апробация работы. Основные результаты исследований были доложены на Международных научно-практических конференциях «Образование, наука, инновации – вклад молодых исследователей» (Кемерово, 2010, 2011, 2012), 10th International Conference on Environmental Mutagens (Firenze, Italy, 2009); 40th Meeting of European Environmental Mutagen Society «Environmental Mutagenesis in the North» (Oslo, Norway, 2010); Российской научной конференции «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии» (Санкт-Петербург, 2011); 42th Meeting of European Environmental Mutagen Society (Warsaw, Poland, 2012); семинаре «Проблемы современной радиационной генетики» (Северск, 2012); VI Международной научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения» (Томск, 2013).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, из них 5 в изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста, содержит 17 таблиц и 9 рисунков. Список цитированной литературы включает 301 источник, из них 205 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объекты. Экспонированная радоном группа (ЭГ) для исследования микроядер (МЯ) и других карциологических аномалий в клетках буккального эпителия и аллельных вариантов генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков была сформирована из воспитанников школы-интерната г. Таштагол, являющегося районным центром горного таежного региона Кемеровской области. Экспедиционные выезды осуществлялись в период с 2007 по 2011 г. Всего обследовано 318 детей и подростков в возрасте 8–18 лет (174 мальчика, 144 девочки). Этнический состав выборки: шорцы – 172 (54 %), европеоиды – 42 (13%), метисы – 104 (33 %). Контрольная группа (КГ) (23 мальчика, 42 девочки в возрасте 9 – 19 лет) включила русских детей и подростков из

сельских населенных пунктов Кемеровской области, проживающих в условиях отсутствия выраженного загрязнения окружающей среды по радиационным и химическим показателям. Сбор анамнестических данных проводили путем устного анкетирования и анализа медицинских карт (форма 025/у-87). Учитывали наличие хронических и инфекционных заболеваний, курения, рентгенодиагностических процедур и приема лекарственных препаратов за 3 месяца до сбора материала.

Для оценки радиационных и химических параметров среды в исследуемых населенных пунктах были выполнены комплексные радиологические, физико-химические и биоиндикаторные исследования. Радиологические исследования выполнены в лаборатории радиационного контроля ООО «Кузбасский СКАРАБЕЙ». Содержание тяжелых металлов в почве исследовалось на базе испытательного центра по агрохимическому обслуживанию «Кемеровский». Результаты биотестирования образцов почвы, воды и воздуха в тестах Эймса и учета доминантных летальных мутаций у *Dr. melanogaster* любезно предоставлены сотрудниками «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина» д-р биол. наук Ф.И. Ингель и канд. биол. наук Л.В. Ахальцевой.

Цитогенетические методы. Препараты буккального эпителия готовили с использованием буферного раствора (Tris HCl, EDTA, NaCl, pH = 7) с учетом рекомендаций [Thomas et al., 2009]. Микроядерный тест выполняли с использованием расширенного протокола [Оценка цитологического..., 2005]. Микроядра идентифицировали согласно критериям Tolbert et al. [1992], учет дополнительных показателей проводился в соответствии с рекомендациями Юрченко и др. [2008]. Частоту клеток с МЯ, протрузиями ядра, ядром атипичной формы, с двумя ядрами, с круговой насечкой, перинуклеарными и ядерными вакуолями выражали в промилле (‰); частоту остальных показателей – как число клеток, найденных сверх 1000.

Молекулярно-генетические методы. Выделение ДНК из периферической крови проводили с использованием реактива «ДНК-Экспресс» (НПФ «Литех», Москва). Исследовали 16 однонуклеотидных замен в 11 генах репарации, 8 замен в 5 генах биотрансформации ксенобиотиков, а также наличие протяженных делеций в генах GSTM1 и GSTT1. Типирование аллельных вариантов генов APE1 T444G (rs1130409), XRCC1 C589T (rs1799782), XRCC1 C839T (rs25489), XRCC1 G1996A (rs25487), XRCC4 C1475T (rs2075686), XRCC4 G1394T (rs2075685), XRCC4 G245A (rs1805377), hOGG1 C977G (rs1052133), ADPRT A2285G (rs1136410), XpC A2815C (rs2228001), XpD T2251G (rs13181), XpG G3310C (rs17655), NBS1 C535G (rs1805794), ATM G5557A (rs1801516), Ligase IV G26A (rs1805388), Ligase IV C4044T (rs1805389), CYP1A1 A2455G (rs1048943), CYP1A2 A163C (rs762551), NAT2 G590A (rs 1799930), NAT2 G857A (rs 1799931), GSTP1 C341T (rs1138271), GSTP1 A313G (rs1695) осуществляли с

использованием аллель-специфической ПЦР и набора реагентов НПР «Литех». При анализе генов GSTM1 и GSTT1, CYP1A1 T3801C (rs 4646903), CYP1A2 A163C (rs762551) использовали мультиплексную ПЦР в режиме реального времени с помощью наборов реактивов ООО «СибДНК»; амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 3 % агарозном геле и в вертикальном 6 % полиакриламидном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

Методы статистической обработки. Статистическую обработку осуществляли средствами программы StatSoft Statistica 6.0. Сравнение групп по качественным признакам и проверку на соответствие равновесию Харди – Вайнберга проводили с помощью критерия χ^2 [<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>], с поправкой Йетса для таблиц 2 x 2 [Гланц, 1998]. Для частот кариологических показателей буккальных эпителиоцитов рассчитывали средние значения (x_{cp}) и их стандартные ошибки (SE) [Животовский, 1991]. Для парного сравнения частот кариологических показателей использовали методы непараметрической статистики (ранговый U-тест Манна – Уитни) [Закс, 1976]. Для оценки прогностических возможностей показателей микроядерного теста использовался расчет величины AUC с помощью ROC-анализа [Zweig, Campbell, 1993]. Корреляционный анализ показателей микроядерного теста проводили с использованием коэффициента корреляции Пирсона для рангов [Гланц, 1998]. Расчет ассоциаций различных генотипов (отдельно и в сочетаниях) генов репарации и биотрансформации с кариологическими показателями буккального эпителия проводился с учетом FDR (False Discovery Rate) поправки уровня значимости (p) на множественные сравнения [Benjamini, Yekutieli, 2001].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика радиационных и химических параметров окружающей среды в местах проживания детей и подростков. Для оценки радиационной обстановки на территориях проживания и обучения обследованных групп были проведены замеры мощности экспозиционной дозы (МЭД) внешнего γ -излучения, объемной активности радона (OA_{Rn}) (табл. 1), определение суммарной объемной активности α - и β -излучающих радионуклидов в пробах водопроводной, питьевой воды, а также в образцах почвы.

Таблица 1. Результаты измерений радиационных параметров в воздухе помещений обследованных территорий

| Населенный пункт/год исследования | МЭД, мкЗв/ч | ОА _{Rn} (M ± m), Бк/м ³ | Пределы ОА _{Rn} |
|-----------------------------------|-------------|---|--------------------------|
| Красное | | РРА-01М-01«Альфарад» | |
| 2008 | 0,14 | 106 ± 17 | 39–203 |
| Пача | | РРА-01М-01«Альфарад» | |
| 2008 | 0,12 | 64 ± 22 | 20–135 |
| Таштагол | | РРА-01М-01«Альфарад» | |
| 2007 (декабрь) | 0,15 | 235 ± 44 | 68–583 |
| 2008 (февраль) | 0,14 | 415 ± 53 | 232–617 |
| 2008 (май) | 0,20 | 200 ± 42 | 101–334 |
| 2009 (февраль) | 0,18 | 730 ± 77 | 192–1285 |
| 2010 (февраль) | 0,15 | 905 ± 234 | 680–1143 |
| Таштагол | | УСК «Прогресс» | |
| 2009 (февраль) | 0,17 | 441 ± 116 | 110–1373 |
| 2011 (май) | 0,17 | 347 ± 101 | 74–749 |

Примечания. ОА_{Rn} – объемная активность радона; М – среднее значение; m – стандартная ошибка средней; МЭД – мощность экспозиционной дозы внешнего γ-излучения.

Показатели мощности экспозиционной дозы внешнего γ-излучения, полученные с использованием дозиметра ДКГ-02У «Арбитр» во всех изученных помещениях школы-интерната г. Таштагол (за весь период наблюдений) и на территориях контрольных населенных пунктов, не превысили нормируемых значений (0,3 мкЗв/ч) (НРБ-99/2009) и находились в пределах 0,12 – 0,2 мкЗв/ч (табл. 1). При оценке значений показателя ОА_{Rn}, полученных с использованием радиометра радона РРА-01М-01 «Альфарад», установлено, что в контрольных населенных пунктах средние значения данного показателя составили 106 ± 17 и 64 ± 22 Бк/м³, в свою очередь, на территории школы-интерната показатель средней объемной активности радона варьировал в пределах 235 – 905 Бк/м³ в зимнее время, 200 – 347 Бк/м³ весной. Усредненное значение данного показателя за весь период обследования составило 463 ± 98 Бк/м³. Все средние значения ОА радона (за исключением весеннего периода 2008 г.) значительно превысили соответствующие показатели для территорий контрольных населенных пунктов, при этом в некоторых помещениях уровень объемной активности достигал 1373 Бк/м³ (табл. 1).

Для верификации полученных с помощью радиометра радона результатов относительно показателя ОА_{Rn} в помещениях школы-интерната были проведены замеры с помощью интегрального метода с использованием УСК «Прогресс» с комплектом

угольных адсорберов в зимний и весенний периоды. Среднее значение данного показателя в помещениях школы интерната составило 441 ± 116 Бк/м³ и 347 ± 101 Бк/м³ соответственно (табл. 1).

На основании полученных значений относительно OA_{Rn} с учетом коэффициента вариации (в зависимости от времени года) был рассчитан показатель эквивалентной равновесной объемной активности (ЭРОА) радона, значение которого в зимний период составило 314,4 Бк/м³, в весенний – 546,8 Бк/м³. Известно, что наиболее объективным приближением к действительному среднегодовому значению ЭРОА является его среднее значение по данным двух интегральных измерений, выполненных в холодный и теплый периоды года. Таким образом, среднегодовое значение ЭРОА изотопов радона в воздухе помещений школы-интерната г. Таштагол составило 421 Бк/м³ при установленном допустимом уровне для эксплуатируемых зданий в 200 Бк/м³ (НРБ-99/2009). Индивидуальная эффективная доза ингаляционного облучения детей только за счет изотопов радона и их короткоживущих дочерних продуктов в воздухе составила ~27 мЗв/год при допустимом уровне 5 мЗв/год от всех источников облучения.

В пробах водопроводной питьевой воды не было выявлено превышения регламентируемого уровня радионуклидов. Удельная эффективная активность проб почвенного грунта составила 100 Бк/кг, что соответствует средним величинам для почв Кузбасса [Сорокина, 2006]. Содержание валовых и подвижных форм тяжелых металлов (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Pb) в образцах почв на территории интерната находились в пределах ПДК, за исключением подвижных форм цинка (1,5 ПДК). Оценка показателя суммарной мутагенной активности в тесте Эймса *Salmonella*/микросомы с использованием штаммов *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100, а также в тесте на индукцию доминантных летальных мутаций в половых клетках дрозофилы показала, что ни один из исследуемых образцов воздушной пыли и воды не проявил мутагенной активности. Анализ соответствующих проб, отобранных на территории проживания контрольной группы, не выявил превышения содержания тяжелых металлов и мутагенной активности контактных сред.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ведущим неблагоприятным экологическим фактором на территории школы-интерната г. Таштагол является радиация, а с учетом результатов радиологических исследований – основным ее источником является сверхнормативное содержание радона и продуктов его распада в воздухе жилых и учебных помещений интерната.

Цитологический статус буккальных эпителиоцитов детей и подростков контрольной и экспонированной радоном групп. По результатам микроядерного анализа препаратов буккальных эпителиоцитов обследованных экспонированной и

контрольной групп рассчитаны пределы варьирования и средние значения частот выявления кариологических нарушений (табл. 2).

Таблица 2. Цитогенетические показатели, показатели пролиферации и деструкции ядра у обследованных экспонированной и контрольной групп ($x_{cp} \pm SE(\min-max)$)

| Показатель | Экспозиция радоном (n = 318) | Контроль (n=65) | P |
|--|---------------------------------|-------------------------|---------|
| Цитогенетические показатели | | | |
| Частота клеток с микроядрами | 0,79 ± 0,07 (0–8) | 0,42 ± 0,11 (0–6) | 0,003 |
| Частота клеток с протрузиями | 3,80 ± 0,18 (0–24) | 1,68 ± 0,22 (0–10) | 0,000 |
| Частота клеток с протрузиями типа «разбитое яйцо» | 0,12 ± 0,02 (0–3) | 0,20 ± 0,05 (0–2) | 0,039 |
| Частота клеток с протрузиями типа «язык» | 0,28 ± 0,03 (0–3) | 0,14 ± 0,05 (0–2) | 0,048 |
| Частота клеток с протрузиями типа «пузырек» | 3,42 ± 0,18 (0–24) | 1,34 ± 0,19 (0–10) | 0,000 |
| Частота клеток с микроядрами и протрузиями | 4,74 ± 0,2 (0–25) | 2,14 ± 0,30 (0–17) | 0,000 |
| Частота клеток с ядром атипичной формы | 17,58 ± 0,51 (0–61) | 22,71 ± 1,41 (3–53) | 0,000 |
| Показатели нарушения пролиферации | | | |
| Частота клеток с двумя ядрами | 2,95 ± 0,15 (0–12) | 1,48 ± 0,25 (0–14) | 0,00000 |
| Частота клеток с круговой насечкой | 5,48 ± 0,23 (0–28) | 3,57 ± 0,38 (0–16) | 0,0002 |
| Суммарная частота | 8,51 ± 0,33 (0–31) | 5,05 ± 0,47 (0–19) | 0,000 |
| Показатели ранней стадии деструкции ядра (апоптоза/некроза) | | | |
| Частота клеток с перинуклеарной вакуолью | 20,88 ± 1,11 (0–168) | 18,40 ± 2,45 (1–105) | 0,071 |
| Частота клеток с конденсацией хроматина | 77,36 ± 3,43 (1–353) | 139,74 ± 8,57 (41–350) | 0,000 |
| Частота клеток с вакуолизацией ядра | 26,91 ± 1,77 (0–182) | 4,63 ± 1,09 (0–60) | 0,000 |
| Показатели завершения деструкции ядра (апоптоза/некроза) | | | |
| Частота клеток с кариорексисом | 2,59 ± 0,28 (0 - 46) | 3,43 ± 0,77 (0 - 27) | 0,569 |
| Частота клеток с кариопикнозом | 10,17 ± 0,65 (0–71) | 4,11 ± 0,49 (0–19) | 0,00005 |
| Частота клеток с кариолизисом | 182,98 ± 6,92 (12–735) | 251,98 ± 22,65 (11–821) | 0,008 |
| Частота клеток с апоптозными телами | 0,47 ± 0,05 (0–7) | 0,12 ± 0,04 (0–1) | 0,001 |

Примечания. x_{cp} – средняя частота; SE – ст. ошибка средней; P – уровень значимости (U-критерий Манна–Уитни).

У обследованной ЭГ по отношению к КГ отмечено достоверное повышение уровня цитогенетических повреждений по всем изученным показателям, за исключением протрузий «разбитое яйцо» и ядер атипичной формы. Показатели пролиферации достоверно выше в ЭГ в 1,5–2 раза в сравнении с КГ. Полученные результаты относительно таких показателей, как конденсация хроматина и кариолизис, свидетельствуют о значимом превышении средних значений для контрольной группы ($p = 0,008$ и $p = 0,000$ соответственно). Важно отметить, что снижение интенсивности деструктивных изменений (конденсация хроматина, кариолизис) в клеточной популяции, характеризующейся повышенным уровнем цитогенетических повреждений, является наиболее неблагоприятным процессом, приводящим к накоплению генетически поврежденных клеток [Сычева, 2007].

Сопряженность показателей микроядерного теста в обследованных группах. Корреляционный анализ показал, что в группе, экспонированной радоном, микроядра чаще встречаются в сочетании с пузырьками ($R = 0,22$; $p < 0,001$), двуядерными клетками ($R = 0,12$; $p = 0,028$), перетяжками ($R = 0,30$; $p < 0,001$), суммарным показателем пролиферации ($R = 0,28$; $p < 0,001$). В контрольной группе положительная корреляция показана между частотой выявления микроядер и двуядерными клетками ($R = 0,32$; $p = 0,008$).

Среди исследуемых цитогенетических аномалий в обеих группах чаще всего регистрируются ядерные протрузии по типу «пузырек». Положительная корреляция данного показателя выявлена с частотой выявления клеток с атипичной формой ядра, при этом в контрольной группе коэффициент корреляции оказался выше ($R = 0,42$; $p < 0,001$), чем в группе экспонированной радоном ($R = 0,26$; $p < 0,001$). Для группы детей и подростков г. Таштагол выявлены положительные статистически достоверные корреляции ядерной протрузии типа «пузырек» с двуядерными клетками ($R = 0,22$; $p < 0,001$) и ядрами с перетяжкой ($R = 0,45$; $p < 0,001$), суммарным показателем пролиферации ($R = 0,44$; $p < 0,001$), пикнотическими ядрами ($R = 0,13$; $p = 0,022$), ядерными вакуолями ($R = 0,24$; $p < 0,001$) и перинуклеарными вакуолями ($R = 0,16$; $p = 0,004$). В контрольной группе соответствующих взаимосвязей не обнаружено.

Таким образом, цитогенетические нарушения в клетках эксфолиативного эпителия при воздействии сверхнормативных доз радона чаще сочетаются между собой, а также с нарушениями пролиферации и деструктивными изменениями ядер, а в контроле чаще наблюдаются одиночные цитогенетические повреждения. Кроме того, полученные корреляционные связи подтверждают предположения других исследователей [Tolbert et al., 1991, Юрченко и др., 2008, Сычева, 2007] о наличии не только цито-, но и генотоксической компоненты в происхождении двуядерных клеток и клеток со сдвоенными ядрами. Повышение частоты этих клеток отмечается при злокачественных

новообразованиях, поэтому они могут быть дополнительным прогностическим признаком потенциальной канцерогенности изучаемого фактора.

Прогностическая эффективность показателей микроядерного теста. Эффективность микроядерного теста для выявления генотоксического воздействия радона и продуктов его распада подтверждается результатами ROC-анализа. Характеристика прогностической ценности кариологических показателей буккального эпителия, основанная на анализе площади под ROC-кривой (Area Under Curve-AUC), представлена в табл. 3, отличным классификатором является вакуолизация ядра при пороговом значении 5 %, хорошим классификатором – протрузии типа «пузырек» при пороговом значении 2 %. На основании полученных результатов в ходе последующих ассоциативных исследований использовались показатели микроядерного теста, обладающие, согласно экспертной шкалы значений AUC, свойствами отличного, хорошего и среднего классификаторов.

Таблица 3. Значения величины AUC для показателей микроядерного теста

| Показатель | AUC | m | ДИ (95 %) | Прогностическая ценность |
|--------------------------------|-------|-------|-------------|---------------------------------|
| Вакуолизация ядра | 0,839 | 0,026 | 0,788;0,889 | Отличный классификатор (> 0,8) |
| Протрузия типа «пузырек» | 0,748 | 0,029 | 0,690;0,805 | Хороший классификатор (0,7–0,8) |
| Двухядерные клетки | 0,686 | 0,033 | 0,621;0,750 | Средний классификатор (0,6–0,7) |
| Кариопикноз | 0,660 | 0,032 | 0,598;0,722 | |
| Круговая насечка | 0,644 | 0,036 | 0,574;0,714 | |
| Микроядро | 0,604 | 0,036 | 0,533;0,675 | |
| Апоптозные тела | 0,598 | 0,013 | 0,530;0,666 | Плохой классификатор (0,5–0,6) |
| Перинуклеарная вакуоль | 0,571 | 0,039 | 0,494;0,648 | |
| Протрузия типа «язык» | 0,555 | 0,037 | 0,483;0,628 | |
| Кариорексис | 0,479 | 0,041 | 0,398;0,559 | Случайный классификатор (< 0,5) |
| Протрузия типа «разбитое яйцо» | 0,456 | 0,041 | 0,376;0,536 | |
| Кариолизис | 0,396 | 0,043 | 0,313;0,479 | |
| Атипичная форма ядра | 0,361 | 0,039 | 0,284;0,438 | |
| Конденсация хроматина | 0,209 | 0,027 | 0,157;0,262 | |

Примечания. m – стандартная ошибка; ДИ – доверительный интервал.

Влияние половозрастных характеристик, этнической принадлежности, заболеваемости, вредных привычек на показатели микроядерного теста. Для корректного изучения роли наследственного полиморфизма в формировании признака радиочувствительности у обследованных ЭГ был проведен сравнительный анализ частот кариологических показателей буккального эпителия в зависимости от пола,

возраста, этнической принадлежности, заболеваемости, наличия вредных привычек (курение).

При анализе влияния пола показано повышение частоты клеток с протрузией типа «пузырек» у девочек в сравнении с мальчиками ($4,03 \pm 0,31$ ‰ и $2,91 \pm 0,18$ ‰ соответственно, $p < 0,01$). В контрольной группе зависимости частоты данного показателя от пола не выявлено, а при сопоставлении средних значений анализируемого показателя в опыте и контроле с учетом пола они в обоих случаях статистически достоверно выше оказались в группе, экспонированной радоном, что свидетельствует о доминирующей роли влияния радона в формировании ядерных протрузий типа «пузырек». По остальным цитогенетическим параметрам, показателям пролиферации и деструкции ядра, статистически значимых гендерных отличий не выявлено.

Данные литературы о сопряженности возраста обследованных с показателями микроядерного теста неоднозначны [Loomis et al., 1990; Pastor S., Creus., Parron et al., 2003; Gattas et al., 2001; Мамуйлов и др., 1998]. В нашем исследовании в состав ЭГ, согласно возрастной периодизации [Ваганов, 2005; Колесинская, Соколов, 2007], вошли представители 3 возрастных групп: второе детство ($N = 151$), подростковый ($N = 128$), юношеский ($N = 39$). Анализ зависимости частот кариологических показателей от возраста обследованных не выявил значимых отличий.

По результатам анкетирования, проведенного в ходе данного исследования, доля курящих детей и подростков в экспонированной радоном выборке составила 14,8% (47 человек). Влияния курения на цитогенетические, пролиферативные и деструктивные показатели буккального эпителия установлено не было. Полученные результаты соответствуют литературным данным, представленным в обзорной публикации N. Holland [2008].

Сравнительный анализ частот кариологических нарушений в ЭГ в зависимости от национальной принадлежности, а также в подгруппах, сформированных по наличию отдельных форм хронических и инфекционных заболеваний, согласно действующей международной классификации болезней Десятого пересмотра (МКБ-10), не выявил влияния данных факторов на изученные показатели.

Результаты микроядерного анализа позволяют сделать следующие заключения: кластогенный эффект воздействия сверхнормативных концентраций радона в буккальных эпителиоцитах детей, включенных в исследование, выражается в увеличении значений числа клеток с микроядрами, ядерными протрузиями, доли клеток с апоптозными телами; показатели нарушения пролиферации буккальных эпителиоцитов выше в группе лиц, подвергающихся воздействию радона; алиментарные факторы: возраст, этническая принадлежность, вредные привычки (курение), заболеваемость – не вызывают существенной модификации регистрируемых

повреждений в клетках буккального эпителия за исключением гендерных различий по частоте встречаемости клеток с протрузиями типа «пузырек»; показана эффективность применения микроядерного теста для выявления генотоксического воздействия радона и продуктов его распада *in vivo*. Следовательно, использование данного теста является перспективным для проведения ассоциативных исследований взаимосвязи кариологических биомаркеров буккальных эпителиоцитов с наследственными полиморфизмами ферментных систем, обеспечивающих стабильность генома человека.

Характеристика полиморфизма генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков в экспонированной радоном группе. Исследованию ассоциаций кариологических показателей с носительством различных вариантов генотипов предшествовало изучение характеристик распределения аллельных вариантов генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков в экспонированной радоном и контрольной группах. В ЭГ выявленные отклонения частот распределения от равновесия Харди – Вайнберга обусловлены снижением частоты гетерозигот по локусам APE1 ($X^2_{H-W} = 4,0032$; $p = 0,0452$) и XpC ($X^2_{H-W} = 5,0519$; $p = 0,0246$), а в контрольной группе по локусам APE1 ($X^2_{H-W} = 14,2542$; $p = 0,0002$) и XpG ($X^2_{H-W} = 5,9265$; $p = 0,0149$).

Сопоставление характеристик распределения генотипов систем репарации ДНК в опытной и контрольной группах позволило установить отличия по локусам XRCC1 C839T ($X^2 = 4,157$, $df = 2$, $p = 0,041$), APE1 ($X^2 = 7,471$, $df = 2$, $p = 0,024$), hOGG1 ($X^2 = 23,814$, $df = 2$, $p = 0,000$), ADPRT ($X^2 = 7,314$, $df = 2$, $p = 0,026$).

Анализ полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков в экспонированной радоном группе выявил отклонения частот распределения от равновесия Харди – Вайнберга, обусловленные повышением частот встречаемости гетерозигот по локусам CYP1A1 A2455G ($X^2_{H-W} = 7,8163$; $p = 0,0052$), CYP1A1 T3801C ($X^2_{H-W} = 30,1501$; $p = 0,0000$); по частотам распределения генотипов в контрольной группе отклонений от равновесия Харди – Вайнберга не выявлено.

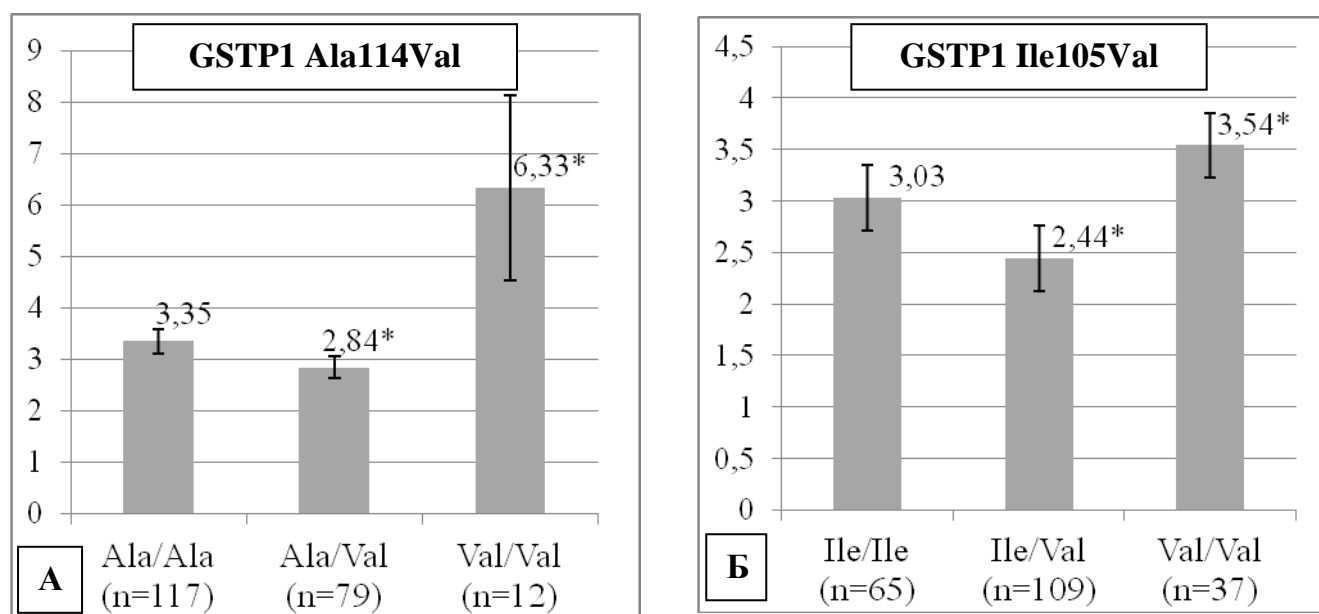
Отличия в характеристиках распределения генотипов между опытной и контрольной группами, обусловленные избытком гомозиготных вариантов по мажорному аллелю в группе сравнения, установлены по локусам CYP1A1 A2455G ($X^2 = 32,4324$, $df = 2$, $p = 0,000$), CYP1A1 T3801C ($X^2 = 48,8263$, $df = 2$, $p = 0,000$), и GSTP1 C341T ($X^2 = 10,4205$, $p = 0,005$). Отличия по локусу GSTM1 ($X^2 = 12,818$, $df = 1$, $p = 0,0003$) обусловлены более высокой частотой встречаемости носителей активной формы фермента в экспонированной группе по сравнению с контролем.

Ассоциации изученных полиморфизмов с показателями микроядерного теста. Цитогенетические показатели. Учет «строгих» микроядер как основного цитогенетического показателя, имеющего исключительно генотоксическое

происхождение, до недавнего времени считался единственным биомаркером эффекта различного типа и уровня экспозиции. Однако современные исследования указывают на высокую информативность дополнительных кариологических показателей микроядерного теста [Полиорганный микроядерный.., 2007], что подтверждается результатами изучения цито- и генотоксических эффектов воздействия радона (табл. 2).

В данном исследовании значимых ассоциаций изученных полиморфизмов с уровнем МЯ выявить не удалось. В свою очередь, установлено, что носительство гомозиготных вариантов по минорным аллелям генов GSTP1 Val114Val (T341T) и GSTP1 Val105Val (G313G) в условиях хронической экспозиции сверхнормативным излучением радона ассоциировано с повышенной частотой выявления протрузий типа «пузырек» ($p=0,006$ и $p=0,014$ соответственно) (рис.1).

Полученный результат может быть обусловлен тем, что у носителей инвариантных аллелей гена GSTP1 изменяется афинность к электрофильным субстратам и снижается активность ферментов, что увеличивает риск развития оксидативного стресса, особенно при дополнительном воздействии ионизирующей радиации. Оксидативный стресс, в свою очередь, сопровождается цитотоксическими и генотоксическими эффектами.



Здесь и далее * – статистически значимые отличия (U-критерий Манна – Уитни).

Рисунок 1. Частоты выявления протрузий «пузырек» у носителей различных генотипов генов биотрансформации ксенобиотиков

Образование «пузырьков» связывают с удалением из ядра ДНК-репарационных комплексов и амплифицированной ДНК [Сычева, 2007]. Анализируя модифицирующее влияние полиморфизма генов репарации ДНК, установлено, что у носителей мажорных аллелей генов XRCC1 Arg399Gln (G1996A) (рис.2, А) и XpG Asp110His (G3310C) (рис.2,Б) частота выявления протрузий типа «пузырек» выше, чем у носителей

минорных аллелей ($p=0,011$ и $p=0,009$ соответственно), что подтверждает более высокую эффективность процессов репарации ДНК у носителей мажорных аллелей.

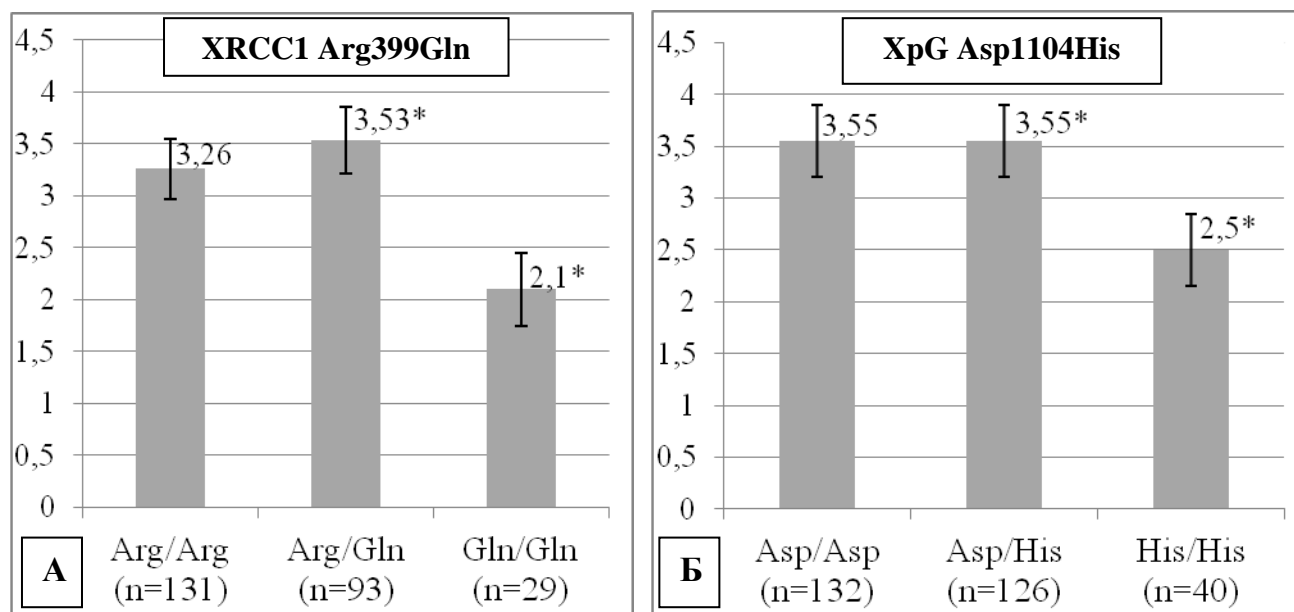


Рисунок 2. Частоты выявления протрузий «пузырек» у носителей различных генотипов генов репарации ДНК

Показатели нарушения пролиферации. Результаты анализа модифицирующего влияния сочетаний генов биотрансформации ксенобиотиков на пролиферативные показатели буккального эпителия позволили установить, что при среднем значении активности ацетилирования, характерного для гетерозигот по гену NAT2 G857A, наличие минорного аллеля CYP1A1 T3801C, приводящего к ускорению метаболизма ксенобиотиков на первой фазе биотрансформации, приводит к увеличению частоты выявления двуядерных клеток ($p = 0,006$), что свидетельствует о нарушениях процесса цитокенеза вследствие накопления электрофильных соединений, развития энергодифицита и повреждения цитоскелета у носителей генотипа CYP1A1 3801 TC/NAT2 857 GA (рис. 3).

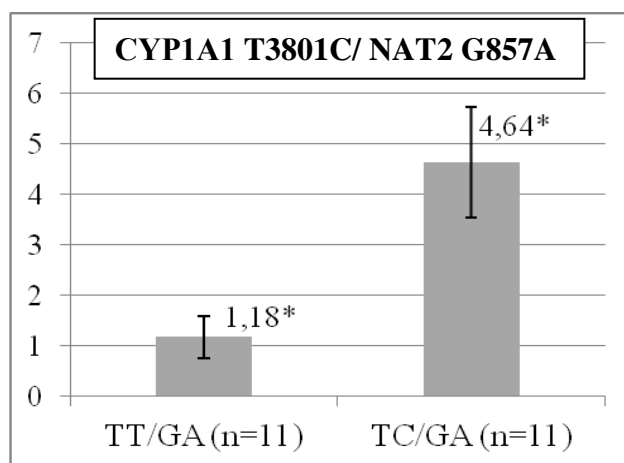


Рисунок 3. Частоты выявления двуядерных клеток у носителей различных генотипов CYP1A1 T3801C/ NAT2 G857A

Вступление клеток в митотический цикл возможно при успешной репарации ДНК. Анализ полученных результатов позволил установить, что у носителей мажорных аллелей генов репарации ДНК XRCC4 G1394G и XpD Lys751Lys (T2251T) в ЭГ показатели пролиферативной активности выше, чем у носителей минорных аллелей (рис.4).

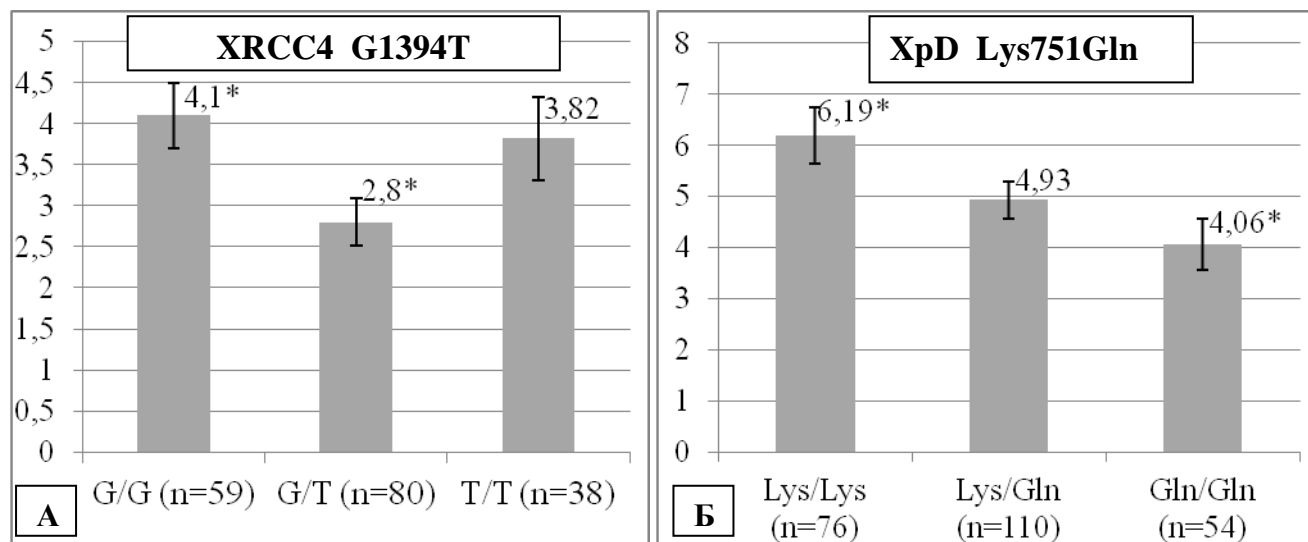


Рисунок 4. Частоты выявления клеток с двумя ядрами (А) и круговой насечкой (Б) у носителей различных вариантов генов репарации ДНК

Показатели деструкции ядра. Анализ модифицирующего влияния полиморфизмов изученных генов на показатели деструкции ядра позволил установить, что для гомозигот по гену ADPRT характерна более высокая частота выявления клеток с пикнотическими ядрами и вакуолизацией ядра по сравнению с носителями минорных аллелей в гомо- и гетерозиготном состояниях (рис. 5А).

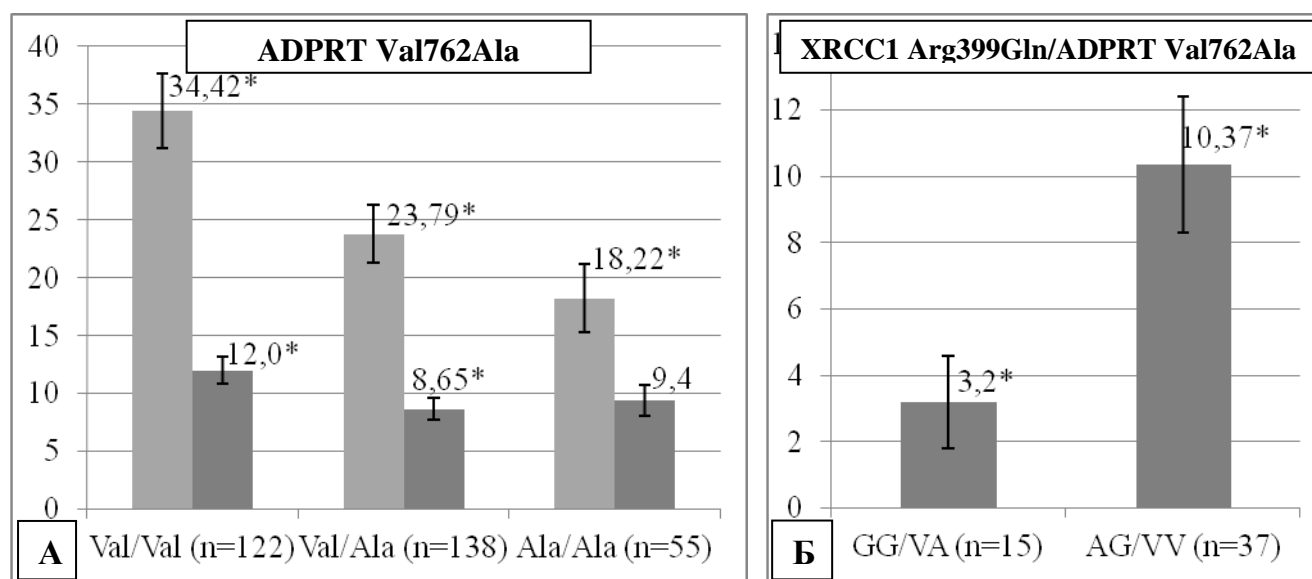


Рисунок 5. Значимые ассоциации частоты клеток с вакуолизацией ядра (□) и частоты клеток с кариопикнозом (■) с полиморфизмом генов репарации ДНК

Носители генотипа ADPRT Val/Val (A2285A) характеризуются высокой активностью фермента [Lockett et al., 2004], что в условиях воздействия ионизирующей радиации может приводить к снижению содержания НАД и развитию энергодефицита клетки. Снижение продукции АТФ, в свою очередь, сопряжено с превращением пуриновых оснований в гипоксантин и мочевую кислоту, а этот процесс сопровождается выделением супероксидных анионов, вызывающих повреждение проницаемости клеточных мембран, в том числе и ядерного матрикса, поступлением воды в ядро, образованием ядерных вакуолей и повышением риска деструктивных изменений ядра в клетках буккального эпителия при воздействии ионизирующей радиации.

В составе мультиферментного комплекса, обеспечивающего репарацию ДНК, взаимодействие продуктов генов ADPRT и XRCC1 нарушает взаимодействие последнего с другими компонентами [Жимулев, 2003] и таким образом снижает эффективность репарации. В данном исследовании показано, что у гомозигот по мажорному аллелю ADPRT в сочетании с гетерозиготностью XRCC1 399 (G1996A) статистически достоверно чаще отмечаются клетки с пикнозом ядра по сравнению с гетерозиготами по гену ADPRT и гомозиготами по минорному аллелю XRCC1 399 (A1996A) ($p=0,0009$) (рис.5 Б).

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

ВЫВОДЫ

1. Ведущим неблагоприятным экологическим фактором на территории школы-интерната г. Таштагол является сверхнормативное содержание радона и продуктов его распада в воздухе жилых и учебных помещений.

2. Для экспонированной радоном группы показано статистически значимое повышение уровня цитогенетических и пролиферативных нарушений в сочетании со снижением интенсивности деструктивных изменений в сравнении с контрольной группой.

3. Наиболее эффективными показателями для идентификации длительного воздействия повышенных доз радона в буккальных эпителиоцитах является частота клеток с протрузией типа «пузырек» и вакуолизацией ядра.

4. Носительство мажорных аллелей генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков (GSTP1 Ala114Val, GSTP1 Ile105Val) и репарации ДНК (XRCC1 Arg399Gln, XRCC4 G1394T, XpD Lys751Gln, XpG Asp1104His) следует отнести к протективным молекулярно-генетическим маркерам, обеспечивающих более высокую адаптивность клеток буккального эпителия к воздействию ионизирующей радиации.

5. Деструктивные изменения ядер в клетках эксфолиативного эпителия ассоциированы с носительством мажорных аллелей гена ADPRT как изолированно, так и в сочетании с носительством минорных аллелей XRCC1 Arg399Gln, а нарушение пролиферации связано с носительством сочетания CYP1A1 3801 TC/NAT2 857 GA.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК:

1. **Мейер А.В.**, Толочко Т.А., Лунина А.А., Ларионов А.В., Минина В.И., Дружинин В.Г. Влияние полиморфизмов генов репарации ДНК на показатели нестабильности генома детей и подростков в условиях повышенной концентрации радона // Медицинская генетика. 2010. № 2. С. 3–8.
2. **Мейер А.В.**, Дружинин В.Г., Ларионов А.В., Толочко Т.А. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса // Цитология. 2010. Т. 52, № 4. С. 305–310.
3. Дружинин В.Г., Алукер Н.Л., Ахальцева Л.В., Головина Т.А., Ингель Ф.И., Ларионов А.В., Сорокина Н.В., Толочко Т.А., **Шапошникова А.В.** Комплексный подход к оценке экологических факторов токсико-генетического риска у детей из Горной Шории // Гигиена и санитария. 2010. № 3. С.12–18.
4. **Мейер А.В.**, Лунина А.А., Ларионов А.В., Минина В.И., Дружинин В.Г. Изучение взаимосвязи между частотой микроядер и ядерных протрузий в клетках буккального эпителия человека и полиморфизмом генов репарации ДНК на фоне воздействия радона // Цитология. 2010. Т. 52. № 8. С. 673–674.
5. Дружинин В.Г., Волков В.А., Глушков А.Н., Головина Т.А., Минина В.И., Ингель Ф.И., Ларионов А.В., **Мейер А.В.**, Лунина А.А., Толочко Т.А., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Юрченко В.В. Роль полиморфизма генов репарации в оценке чувствительности генома человека к воздействию сверхнормативных концентраций радона // Гигиена и санитария. 2011. № 5. С. 26–30.

Статьи в сборниках и тезисы конференций:

1. **Мейер А.В.**, Лунина А.А., Волобаев В.П. Влияние полиморфизма гена CYP1A1 A2455G на показатели апоптоза и некроза буккальных эпителиоцитов у детей и подростков // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий. Абакан: Издательство Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова, 2009. Выпуск 13: в 2 т. Т. 2. С. 142–143.
2. Druzhinin V.G., Golovina T.A., Glushkov A.N., Larionov A.V., Minina V.I., **Shaposhnikova A.V.**, Volkov A.N. Long-term exposition by domestic radon radiation and genotoxic effects in children from Western Siberia / Abstr. 10th International Conference on Environmental Mutagens. 2009. Firenze, Italy, August 20–25. Firenze, Italy, 2009. P. 189.
3. **Мейер А.В.** Цитогенетические нарушения в эпителии щеки детей и подростков проживающих в условиях повышенной концентрации радона // Образование, наука, инновации – вклад молодых исследователей: материалы V (XXXVII) Международной

научно-практической конференции в 2 т. Кемеровский госуниверситет. Кемерово: ООО «ИНТ», 2010. Вып. 11. Т. 2. С. 41–43.

4. Druzhinin V., Glushkov A., Larionov A., Lunina A., Minina V., **Meyer A.**, Tolochko T., Volkov A. Correlation between reparation genes polymorphism and chromosomal aberrations in long-term radon exposition conditions / Abstr. 40th Meeting of European Environmental Mutagen Society «Environmental Mutagenesis in the North», September 15–18th, 2010. Oslo, Norway, 2010. P. 212–213.

5. Bonassi S., Coskun E., Ceppi M., Lando C., Bolognesi C., Burgaz S., Holland N., Kirsh-Volders M., Knasmueller S., Zeiger E., Carnesoltas D., Cavallo D., da Silva J., de Andrade V.M., Demircigil G.C., Odio A.D., Donmez-Altuntas H., Gattas G., Giri A., Giri S., Gómez-Meda B., Gómez-Arroyo S., Hadjidekova V., Haveric A., Kamboj M., Kurteshi K., Martino-Roth M.G., Montoya R.M., Nersesyanyan A., Pastor-Benito S., Salvadori D.M., **Shaposhnikova A.** Stopper H., Thomas P., Torres-Bugarín O., Yadav A.S., González G.Z., Fenech M. The HUman MicroNucleus project on eXfoLiated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol // Mutat. Res. 2011. Vol. 728, № 3. P. 88–97.

6. **Мейер А.В.**, Дружинин В.Г., Толочко Т.А. Влияние повышенных доз радона в воздухе жилых и учебных помещений на кариологические показатели буккальных эпителиоцитов детей / Современные проблемы экологии: доклады VII Всероссийской науч.-техн. конф.; под общ. ред. Э.М. Соколова. Тула: Издательство «Инновационные технологии», 2011. С. 99–101.

7. **Мейер А.В.**, Толочко Т.А. Изучение динамики цитогенетических показателей буккального эпителия детей и подростков г. Таштагол // Образование, наука, инновации – вклад молодых исследователей: материалы VI (XXXVIII) Международной научно-практической конференции в 2 т. Кемеровский госуниверситет. Кемерово: ООО «ИНТ», 2011. Вып. 12. Т. 2. С. 46–48.

8. **Мейер А.В.** Влияние полиморфизма гена NBS1 на цитогенетические показатели буккального эпителия // Образование, наука, инновации – вклад молодых исследователей: материалы VII (XXXIX) Международной научно-практической конференции в 2 т. Кемеровский госуниверситет. Кемерово: ООО «ИНТ», 2012. Вып. 13. – С.102.

9. Druzhinin V., Fucic A., **Meyer A.**, Sinitsky M. Chromosome aberration and micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells of children environmentally exposed to increased radon levels / Abstr. 42th Meeting of European Environmental Mutagen Society, September 16-20th, 2012. Warsaw University, Poland, 2012. P. 113.

10. **Мейер А.В.**, Толочко Т.А. Использование микроядерного теста для поиска генетических основ радиочувствительности / Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения: материалы VI международной научно-практической конференции, 11–13 марта 2013 г., Северск-Томск / Отв. ред. Р.М. Тахауов. Томск: ООО «РГ «Графика», 2013. С. 47–48.