

Н.А. МАЗНИК

Институт медицинской радиологии
имени С.П. Григорьева АМН Украины,
ул. Пушкинская, 82, Харьков, 61024
e-mail: imr@online.kharkiv.net

РОЛЬ ФАКТОРОВ НЕРАДИАЦИОННОЙ ПРИРОДЫ В ФОРМИРОВАНИИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ У ЭВАКУАНТОВ ИЗ 30-КМ ЗОНЫ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС



Представлены результаты исследования динамики частоты aberrаций хроматидного типа, ацентрических парных фрагментов, гипер- и полиплоидии в лимфоцитах крови эвакуированных жителей г. Припять и других населенных пунктов 30-км зоны ЧАЭС. Изменения цитогенетических показателей у эвакуантов проявились в виде постепенного снижения частоты структурных перестроек хромосом и геномных нарушений от достоверно повышенного уровня в первые 1–2 года после аварии до субконтрольных значений в конце 14-летнего периода наблюдений. В ранние сроки после экспозиции у взрослых мужчин-эвакуантов обнаруживалась более высокая частота хроматидных обменов, а у женщин 23–35 лет — повышенный уровень полиплоидии по сравнению с другими подгруппами. Показаны отличия в характере изменений частоты фрагментных aberrаций у лиц с различными сроками эвакуации. Обсуждается роль комплекса мутагенных факторов аварийной ситуации в зоне ЧАЭС в индукции повышенного уровня цитогенетических повреждений у эвакуантов.

© Н.А. МАЗНИК, 2004

Введение. Одним из важных направлений генетики человека в Украине на протяжении последних 18 лет является мониторинг состояния хромосомного аппарата у лиц, пострадавших вследствие Чернобыльской катастрофы 1986 г. Как правило, основное внимание при цитогенетических исследованиях в чернобыльских когортах уделялось маркерам радиационного воздействия — обменным aberrациям хромосомного типа, достаточно эффективно используемым для биологической детекции лучевой нагрузки как в ранние сроки после облучения (дицентрики), так и в отдаленный постэкспозиционный период (стабильные транслокации) [1–4]. Однако, несмотря на превалирующую биодозиметрическую направленность цитогенетического мониторинга чернобыльских контингентов, во многих работах наряду с учетом хромосомных обменов регистрировались и другие виды aberrаций хромосом, детектируемых методом классического хромосомного анализа, что позволяло оценивать общую пораженность хромосомного аппарата лимфоцитов крови у пострадавших.

В большинстве публикаций, посвященных результатам постчернобыльских исследований, отмечалось, что существенную, а зачастую доминирующую пропорцию в спектре цитогенетических повреждений у экспонированных индивидов составляли парные хромосомные фрагменты и aberrации хроматидного типа [1, 5–8]. Известно, что хроматидные перестройки являются нехарактерными для радиационного мутагенеза в лимфоцитах крови человека, а парные фрагменты, традиционно рассматриваемые как радиогенные aberrации, не имеют абсолютной специфичности по отношению к действию ионизирующих излучений и могут эффективно индуцироваться в лимфоцитах химическими мутагенами [9]. Тем не менее наблюдавшееся в разные сроки после катастрофы превышение спонтанного уровня aberrаций у эвакуантов из 30-км зоны, жителей радиоактивно загрязненных территорий и ликвидаторов, работавших в зоне аварии в плановом порядке, в значительной мере обеспечивалось именно этими видами хромосомных перестроек.

Кроме того, в некоторых работах по изучению цитогенетических последствий радиационных аварий, в том числе Чернобыльской, приводятся данные о наличии повышенной частоты

геномных нарушений у пострадавших [6, 10–12]. Число таких сообщений весьма невелико, что, по-видимому, связано с эмпирически выработанным и нормативно закрепленным в методических рекомендациях МАГАТЭ [13] правилом учета структурных перестроек хромосом, используемых для биологической дозиметрии, только в нормоплоидных метафазах. Однако возникновение анеуплоидии в соматических клетках человека является признанным эффектом мутагенного воздействия [9], и наличие нарушений ploидности генома выступает важной дополнительной характеристикой цитогенетического статуса лиц чернобыльского контингента.

Среди массовых чернобыльских когорт эвакуированные жители г. Припять и других населенных пунктов 30-км зоны ЧАЭС являются наименее исследованной в цитогенетическом аспекте группой по сравнению с ликвидаторами и населением радиоактивно загрязненных территорий. Результаты обследования эвакуантов представлены в литературе единичными сообщениями, к тому же не всегда содержащими информацию о полном спектре цитогенетических нарушений [1, 2, 14–17].

Целью настоящей работы было представление картины цитогенетических эффектов у эвакуантов из 30-км зоны ЧАЭС в ранний и отдаленный поставарийный периоды с анализом показателей, которые не используются для биологической дозиметрии, но характеризуют общий мутагенез в лимфоцитах крови человека, а также обсуждение возможных причин возникновения повышенного уровня фрагментных aberrаций, хроматидных обменов и геномных нарушений в этой когорте.

Материал и методика. Исследованная выборка состояла из 112 жителей г. Припять и других населенных пунктов 30-км зоны ЧАЭС, в том числе 50 мужчин и 52 женщин в возрасте от 23 до 66 лет, а также 10 детей и подростков в возрасте от 4 до 17 лет, которые были эвакуированы в Харьковскую область в течение первых дней-недель после катастрофы. Все индивиды проходили цитогенетическое обследование в Институте медицинской радиологии г. Харькова в сроки от 2 сут до 14,75 лет после эвакуации. В выборке отсутствовали лица с симптомами лучевой болезни, местными лучевыми

реакциями и онкопатологией. Контрольная группа состояла из 31 женщины и 19 мужчин в возрасте от 16 до 58 лет (в среднем 33 года), жителей г. Харькова и Харьковской области, которые не имели в анамнезе онкопатологии и не проходили рентгенодиагностических процедур в сроки до 3 мес перед цитогенетическим обследованием.

Классический хромосомный анализ лимфоцитов периферической крови проводился по стандартной методике [13]. Лимфоциты, стимулированные фитогемагглютинином, культивировали в смеси среды Игла и сыворотки крупного рогатого скота (4:1) при температуре 37,5 °C в течение 50 ч. Остановку митозов производили на 47-м часу культивирования внесением колхицина в концентрации 0,1 мкг/мл. После гипотонической обработки клетки фиксировали в смеси метанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Суспензию клеток наносили на предметное стекло и окрашивали по Гимза. Анализ кодированных препаратов осуществлялся путем световой микроскопии при увеличении $\times 900$ – 1000 . В индивидуальных исследованиях в зависимости от пролиферативной активности лимфоцитов в культуре анализировали от 50 до 1200 метафаз. При этом учитывали весь спектр нестабильных aberrаций хромосом, идентифицируемых по общепринятым критериям [13], полиплоиды и гиперплоиды («истинная» анеуплоидия). При объединении индивидуальных данных рассчитывали взвешенные среднegrupповые частоты цитогенетических повреждений и их стандартные ошибки, исходящие из реальной дисперсии индивидуальных значений показателя в группе. Рандомизированность распределения индивидуальных частот хромосомных перестроек в группах оценивали по отношению дисперсии к среднему. При статистическом анализе использовали *t*-критерий Стьюдента для несвязанных выборок.

Результаты исследований. Спектр цитогенетических повреждений в лимфоцитах крови эвакуантов, рассматриваемый в настоящей работе, состоял из хромосомных парных фрагментов, хроматидных обменов, одиночных фрагментов, гипер- и полиплоидных клеток. Все выявленные гиперплоиды были представлены клетками с 47 хромосомами (трисомия

по отдельным хромосомам); все обнаруженные полиплоиды являлись тетраплоидами и не содержали aberrаций. Для анализа динамики частоты указанных видов aberrаций и геномных нарушений выборка была распределена на пять групп в зависимости от сроков обследования. Изменения среднегрупповых показателей у эвакуантов с течением времени после выхода из зоны ЧАЭС представлены в табл. 1.

На всех усредненных сроках обследования дисперсность распределения индивидуальных частот каждого вида цитогенетических повреждений в группах не превышала границ разброса, предусматриваемого статистикой Пуассона. Максимальные значения частоты парных фрагментов (9 на 100 клеток), хроматидных обменов (3 на 100 клеток), гипер- и полиплоидии (2 на 100 клеток) наблюдались в индивидуальных анализах у эвакуантов в период до одного года после выхода из зоны ЧАЭС, а самый высокий индивидуальный уровень хроматидных делеций (10 на 100 клеток) был выявлен в сроки около двух лет после эвакуации. В дальнейшем верхняя граница индивидуальных значений частоты aberrаций снижалась, и в конце периода наблюдений не превышала граничных контрольных значений: 1,9–2,5 на

100 клеток в случае одиночных и парных фрагментов, 0,3–0,4 на 100 клеток в случае хроматидных обменов, гипер- и полиплоидии.

В наиболее ранние сроки после выхода из зоны аварии среднее значение суммарной частоты aberrаций хроматидного типа у эвакуантов превышало контроль в 2,7 раза, причем за счет как обменов ($p < 0,05$), так и одиночных фрагментов ($p < 0,001$). Высокий уровень достоверности превышения контроля присутствовал в случае начально-индуцированной частоты парных фрагментов ($p < 0,001$). Частоты гипер- и полиплоидных клеток также были повышенными относительно спонтанных значений ($p < 0,01$).

Динамика уровня структурных перестроек хромосом у эвакуантов характеризовалась наличием начального плато длительностью около одного года в случае парных хромосомных фрагментов и хроматидных обменов и около двух лет — в случае одиночных фрагментов. В последующий период изменения частоты aberrаций носили элиминационный характер. В сроки около 8 лет после экспозиции исчезла разница между эвакуантами и контролем по частоте хроматидных обменов, а через 14 лет после выхода из зоны ЧАЭС в экспонирован-

Таблица 1

Динамика цитогенетических показателей у эвакуантов с течением времени после выхода из зоны ЧАЭС

Срок обследования (средний $\pm$ SE)	n	Сумма клеток	Частота на 100 клеток $\pm$ SE				
			Хромосомные парные фрагменты	Хроматидные обмены	Хроматидные одиночные фрагменты	Гиперплоиды	Полиплоиды
1–9 сут (4 $\pm$ 1 сут)	20	2316	2,03 $\pm$ 0,31	0,22 $\pm$ 0,12	1,55 $\pm$ 0,30	0,22 $\pm$ 0,11	0,26 $\pm$ 0,10
0,17–1,00 лет (0,73 $\pm$ 0,03 лет)	40	4221	2,16 $\pm$ 0,20	0,40 $\pm$ 0,10	1,45 $\pm$ 0,18	0,07 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,07
1,42–3,67 лет (2,13 $\pm$ 0,11 лет)	20	2065	1,79 $\pm$ 0,35	0,19 $\pm$ 0,08	2,42 $\pm$ 0,48	0,15 $\pm$ 0,07	0,19 $\pm$ 0,08
4,58–10,67 лет (7,99 $\pm$ 0,87 лет)	14	3603	1,42 $\pm$ 0,19	0,08 $\pm$ 0,04	1,08 $\pm$ 0,22	0,06 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,09
12,83–14,75 лет (14,32 $\pm$ 0,15 лет)	18	9314	0,47 $\pm$ 0,12	0,06 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,11	0,02 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,04
Контроль	50	19289	0,53 $\pm$ 0,08	0,05 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,07	0,02 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,02

Примечание. Здесь и в табл. 2: n — число индивидов в группе; SE — стандартная ошибка среднего, рассчитанная по реальной дисперсии индивидуальных значений показателя в группе.

ной выборке уже не детектировалось превышение спонтанного уровня фрагментных аберраций хромосомного и хроматидного типов.

Частота гиперплоидов падала в три раза в течение первого года и постепенно снижалась в интервале от 2 до 14 лет, фактически достигая контрольного уровня в наиболее отдаленные сроки. Средняя частота полиплоидных клеток у эвакуантов снижалась менее резко, превышая контроль в 4 раза в ранний период, в 3 раза — в сроки около 2 лет и стабилизируясь на уровне двукратного превышения контроля в интервале 8–14 лет после экспозиции. Статистически значимые отличия между эвакуантами и контрольной группой по обоим показателям присутствовали на первых трех усредненных точках времени, но не в более поздний период.

Влияние факторов пола и возраста на картину цитогенетических эффектов у эвакуантов было изучено в выборке из 60 индивидов, обследованных в сроки до 1 года после эвакуации (табл. 2). Средний возраст в группах женщин и мужчин-эвакуантов совпадал, составляя 31 ± 2 и 29 ± 3 лет соответственно. Между половыми группами не наблюдалось разницы по частоте фрагментных аберраций и гиперплоидии. Отличия по хроматидным обменам, выявлявшимся с большей частотой у мужчин, были статистически незначимыми ($p > 0,05$), и единственным показателем, на который влиял фактор пола, была частота полиплоидии, оказавшаяся более высокой у женщин по сравнению с мужчинами ($p < 0,05$).

При разбивке выборки по возрасту в состав младшей группы вошли 7 мальчиков и 3 девочки, а группы взрослых лиц были сбалансированными по половому критерию (50 % мужчин, 50 % женщин). Средний уровень парных фрагментов у юных эвакуантов оказался достоверно ниже, чем в возрастных группах 23–35 и 36–66 лет ($p < 0,05$), однако в контрольной выборке также существовала положительная зависимость данного показателя от возраста: спонтанная частота ацентриков в данных возрастных группах контрольных доноров составляла соответственно $0,09 \pm 0,09$; $0,37 \pm 0,11$ и $0,91 \pm 0,22$ на 100 клеток. Надспонтанный эксцесс частоты парных фрагментов оказался весьма близким у эвакуантов разного возраста: 1,21 на 100 клеток в группе детей и подростков, 1,81 на 100 клеток в группе взрослых лиц молодого возраста и 1,61 на 100 клеток в наиболее старшей группе. В каждой возрастной категории значение показателя у экспонированных лиц превышало соответствующий спонтанный уровень с одинаково высокой степенью достоверности — $p < 0,001$.

У эвакуантов не наблюдалось возрастных трендов для частоты одиночных фрагментов и полиплоидов. Уровень гиперплоидии был несколько выше в младшей группе, чем у взрослых лиц, однако без достоверных межгрупповых различий ($p > 0,05$). Накопительный тренд для хроматидных обменов также не сопровождался возникновением статистической разницы между группой детей и подростков и наиболее старшей группой ($p > 0,05$).

Таблица 2
Цитогенетические показатели у эвакуантов разного пола и возраста в ранние сроки после экспозиции

Группы эвакуантов	n	Частота на 100 клеток $\pm$ SE				
		Хромосомные парные фрагменты	Хроматидные обмены	Хроматидные одиночные фрагменты	Гиперплоиды	Полиплоиды
Разного пола						
женщины	28	$2,22 \pm 0,24$	$0,23 \pm 0,10$	$1,66 \pm 0,28$	$0,10 \pm 0,08$	$0,40 \pm 0,10$
мужчины	32	$2,02 \pm 0,23$	$0,43 \pm 0,11$	$1,34 \pm 0,16$	$0,14 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,06$
Разного возраста (средний возраст $\pm$ SE)						
4–17 (12 ± 2)	10	$1,30 \pm 0,32$	$0,15 \pm 0,12$	$1,38 \pm 0,27$	$0,23 \pm 0,18$	$0,08 \pm 0,08$
23–35 (28 ± 1)	30	$2,18 \pm 0,20$	$0,34 \pm 0,12$	$1,62 \pm 0,26$	$0,09 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,10$
36–66 (45 ± 2)	20	$2,52 \pm 0,35$	$0,44 \pm 0,14$	$1,34 \pm 0,23$	$0,10 \pm 0,05$	$0,10 \pm 0,07$

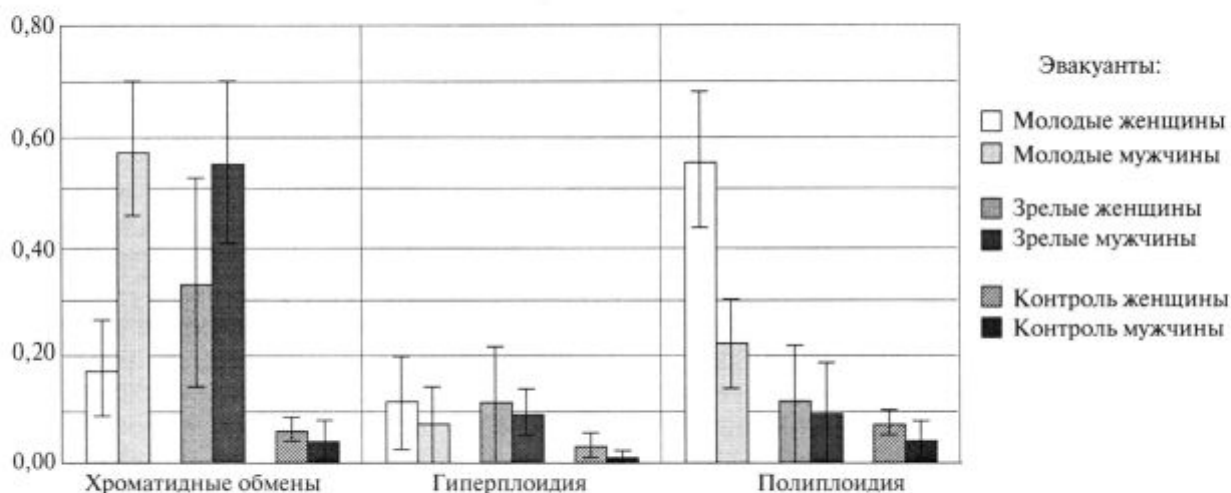


Рис. 1. Частота хроматидных обменов на 100 клеток (по вертикали) и геномных нарушений у взрослых эвакуантов в зависимости от пола и возраста

Дополнительный анализ частоты хроматидных обменов, гиперплоидии и полиплоидии был проведен в выборке, ограниченной только взрослыми лицами, с разделением на группы молодых женщин и молодых мужчин (от 23 до 35 лет, по 15 человек в группе), а также женщин и мужчин зрелого возраста (от 36 до 66 лет, по 10 человек в группе). Результаты представлены на рис. 1. В контрольной выборке внутри групп мужчин и женщин не наблюдалось никаких возрастных трендов для указанных показателей, поэтому данные контроля представлены в обобщенных возрастных группах.

У мужчин-эвакуантов разного возраста частота хроматидных обменов совпадала, а у женщин незначительно повышалась с возрастом; уровень данного вида аберраций в группе лиц 23–35 лет был достоверно выше у мужчин, чем у женщин ($p < 0,05$). Средний уровень гиперплоидии во всех четырех группах эвакуантов оказался сходным и составлял около 0,1 на 100 клеток. Уровень полиплоидии не имел статистических отличий у мужчин разных возрастных категорий и также не отличался у мужчин и женщин зрелого возраста, однако у женщин 23–35 лет частота данного вида геномных нарушений была достоверно повышена по сравнению с мужчинами той же возрастной группы и женщинами старшей возрастной категории ($p < 0,05$ в обоих случаях).

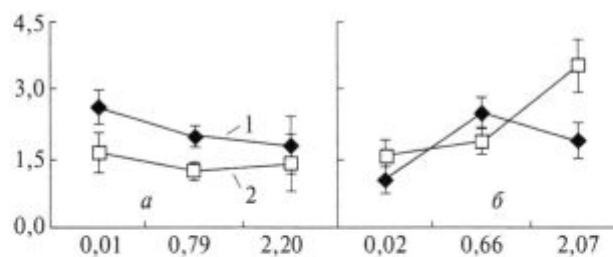


Рис. 2. Начальные этапы динамики уровня парных и одиночных фрагментов у жителей г. Припять и 30-км зоны ЧАЭС с разными сроками эвакуации: а — эвакуированные в течение 2 сут; б — 3–11 сут; по вертикали — частота аберраций на 100 клеток; по горизонтали — сроки обследования, годы; 1 — парные фрагменты; 2 — одиночные фрагменты

У лиц с разными сроками эвакуации было проведено сопоставление начальных этапов динамики показателей, эксцесс которых не проявил зависимости от факторов пола и возраста, т.е. уровня парных и одиночных фрагментов (рис. 2). Данные индивидуальных обследований у лиц, эвакуированных в первые 2 сут или в течение 3–11 сут после аварии, были объединены в интервалах сроков 1–9 дней, 6–12 месяцев и 1,42–3,67 лет после пребывания в зоне ЧАЭС. Число индивидов на усредненных точках времени составляло соответственно 13, 22 и 10 человек в первой группе, 7, 18 и 10 человек — во второй группе.

Изменения частоты хроматидных фрагментов в данных группах в указанный период были

разнонаправленными, что приводило к возникновению достоверных различий между эвакуантами, покинувшими зону ЧАЭС в течение первых 2 сут и 3–11 сут после аварии, на третьей усредненной точке времени ($p < 0,05$). Исходный уровень парных фрагментов оказался более высоким у лиц со сроком эвакуации 2 сут, чем у эвакуантов с продленным сроком пребывания в зоне ЧАЭС ($p < 0,01$). В дальнейшем в первой группе наблюдался элиминационный тренд для парных фрагментов, повторявший ход динамики частоты одиночных фрагментов. В то же время у лиц, находившихся в зоне аварии 3–11 сут, частота парных фрагментов существенно возрастала между первой и второй точками ($p < 0,05$) и оставалась стабильной в интервале между второй и третьей точками, что качественно ассоциировалось с интенсивным накоплением хроматидных фрагментов в этой группе.

Обсуждение полученных данных. Полученная картина цитогенетических эффектов у эвакуантов из 30-км зоны аварии характеризовалась значительной повышенностью начального уровня аберраций хромосом и геномных нарушений по сравнению с показателями контрольной группы, адекватной экспонированной выборке по полу и возрасту. Частота парных хромосомных фрагментов у эвакуантов в нашей работе находится в достаточно хорошем соответствии с данными немногочисленных сообщений о результатах цитогенетических исследований аналогичных выборок. Так, в группе из 60 жителей г. Припять и сел в радиусе 15–60 км от ЧАЭС, эвакуированных в интервале от 1 до 10 сут после катастрофы и обследованных в клинической больнице № 7 г. Москвы (сроки не указаны, но предположительно ранние), средний уровень свободных фрагментов составлял 0,89 на 100 клеток [14]. В работе [1] описана группа из 35 жителей г. Припять, обследованных через 1–3 мес после эвакуации, которая характеризовалась средней частотой ацентрических парных фрагментов 1,24 на 100 клеток. Вместе с тем у белорусских детей и подростков (от 6 до 15 лет), вывезенных из 30-км зоны ЧАЭС через 11–12 сут после аварии, средний уровень парных фрагментов через 3 мес после эвакуации варьировал от 0,55 до 3,61 на 100 клеток в зависимости от исходного места

проживания, а в целом по выборке из 60 индивидов составлял 2,21 на 100 клеток [15]. В двух последних публикациях приводятся данные референтного контроля, исходя из которых надспонтанный эксцесс частоты парных фрагментов в среднем составлял 1,05 на 100 клеток в работе [1] и 1,74 на 100 клеток в работе [15], что вполне сопоставимо со значением 1,5 на 100 клеток в нашем исследовании.

Что касается более поздних сроков, то в доступной литературе наличествует только одно сообщение о результатах цитогенетического исследования, проведенного в 1991–1994 гг. в выборке из 49 детей, эвакуированных из различных зон Украины, России и Белоруссии с неблагоприятной радиационно-экологической обстановкой, в том числе 11 эвакуантов из г. Припять [16]. По сравнению с лицами, обследованными в нашей работе в сроки 4,6–10,7 лет после эвакуации, данная группа характеризовалась пониженной частотой парных фрагментов (0,8 на 100 клеток), но повышенным уровнем одиночных фрагментов (1,6 на 100 клеток). Эти различия могут объясняться действием возрастного фактора, а также особенностями состава групп, так как часть лиц, обследованных авторами [16], достаточно долго проживала на загрязненных территориях, не входящих в 30-км зону ЧАЭС.

На фоне встречающихся в литературе мнений об отсутствии влияния факторов Чернобыльской аварии на уровень хроматидных аберраций у человека [18] достоверное повышение частоты цитогенетических повреждений данного типа в чернобыльских когортах в постэкспозиционный период отмечалось в достаточном числе публикаций, чтобы не считать данный эффект артефактом, пренебрегая им при оценке цитогенетических эффектов у пострадавших [5–8, 10, 11, 16, 19–21].

На ранних этапах развития радиационной цитогенетики при изучении механизмов образования хромосомных перестроек стало очевидным, что ионизирующие излучения могут индуцировать аберрации хроматидного типа, но только при облучении клеток на репликативной и пострепликативной стадиях (S и G₂) клеточного цикла [22]. Тем не менее все же известен альтернативный механизм, обеспечивающий дозозависимое повышение уровня

хроматидных aberrаций в зрелых периферических лимфоцитах человека при радиационном облучении, который заключается в действии кластогенных факторов, образующихся в плазме крови [23]. Однако в модельном эксперименте с культивированием интактных лимфоцитов в присутствии изолированно облученной плазмы было установлено, что выход конечного эффекта на единицу дозы острого гамма-облучения в диапазоне от 0,05 до 10 Гр весьма невелик [23]. Размерность надспонтанного эксцесса частоты хроматидных aberrаций у эвакуантов в ранние сроки после экспозиции в нашем исследовании сопоставима с результатами, наблюдавшимися в указанном эксперименте только при наиболее высоких использованных дозах — 5 и 10 Гр, что в десятки раз превосходит верхнюю границу дозовых нагрузок у представителей черновыльской когорты. Кроме того, по данным той же работы кластогенные факторы облученной плазмы индуцируют преимущественно одиночные фрагменты, в то время как превышение спонтанного уровня хроматидных aberrаций у эвакуантов в значительной мере обеспечивалось обмeнами, которые малохарактерны для спонтанного мутагенеза, но весьма эффективно индуцируются химическими мутагенами.

Способность вызывать образование перестроек хроматидного типа в зрелых лимфоцитах крови человека была показана для широкого спектра химических агентов, причем как в экспериментах *in vitro*, так и в наблюдениях *in vivo*; молекулярные механизмы действия химических мутагенов в данной клеточной тест-системе изучены достаточно хорошо [9]. С этих позиций, исходя из опыта собственных исследований в области химического мутагенеза, авторы [5, 10] связывали повышение уровня хроматидных aberrаций у населения радиоактивно загрязненных территорий с фактом проживания в местностях с высокой степенью загрязненности пестицидами и белково-витаминной недостаточностью рационов. На наш взгляд, вполне вероятными индукторами радиационно-неспецифических перестроек хромосом у эвакуантов, кроме пестицидов, могли выступать и другие химические факторы, присутствовавшие в зоне Чернобыльской катастрофы — вещества, использовавшиеся

при дезактивационных мероприятиях, а также значительное число разнообразных химических соединений (в том числе солей тяжелых металлов), поступивших в окружающую среду в результате выброса из реактора.

В целом доказательством того, что повышенный уровень aberrаций хроматидного типа у эвакуантов был вызван именно факторами аварийной ситуации, действовавшими в зоне ЧАЭС, а не какими-то генотоксическими агентами, присутствовавшими в данной местности до катастрофы, служит сходство надспонтанного эксцесса частоты хроматидных перестроек у эвакуированного населения в нашей работе и ликвидаторов, обследованных разными авторами [5–8, 20]. В указанных работах средняя частота хроматидных фрагментов у ликвидаторов в ранние сроки после окончания работы в зоне аварии составляла от 1,3 до 3,3 на 100 клеток, что весьма хорошо соответствует интервалу значений в нашем исследовании (1,5–2,5 на 100 клеток в сроки до 2,5 лет после эвакуации).

Касательно механизмов образования парных хромосомных фрагментов показано, что этот вид перестроек не обладает абсолютной эксклюзивностью по отношению к радиационному фактору и может эффективно индуцироваться в лимфоцитах химическими мутагенами, повреждающими ДНК на предсинтетической стадии клеточного цикла [9]. Мы также считаем, что накопление парных фрагментов в лимфоцитах человека в условиях химической экспозиции *in vivo* может обеспечиваться за счет трансформации хроматидных одиночных фрагментов, возникших в клетках-предшественниках и перешедших в дочерние лимфоциты в ходе митотических делений лимфоцитпрекурсоров. При культивировании зрелых лимфоцитов с унаследованными от клеток-предшественников хроматидными фрагментами эти aberrации будут удваиваться в фазе репликации ДНК и на стадии митоза будут представлять уже парные фрагменты.

В дополнение к существенно повышенному уровню структурных перестроек хромосом в исследованной черновыльской когорте наблюдалось достоверное возрастание частоты гиперплоидных и полиплоидных клеток. Наличие лимфоцитов с нарушенной плоидностью генома также отмечалось у лиц, пострадавших

при радиационном инциденте в Гойяни [12], ликвидаторов [6] и жителей радиоактивно загрязненных территорий Белоруссии и Украины [10, 11, 24]. По данным работы Сускова и др. [25], гиперплоидные клетки весьма часто выявлялись у детей и подростков, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, что отвечает результатам нашего наблюдения у эвакуантов, среди которых наблюдалась тенденция к более высокой начально-индуцированной частоте данного вида геномных нарушений именно у детей.

Очевидными причинами возрастания уровня геномных нарушений в лимфоцитах крови человека *in vivo* являются дефекты систем репликации и митотической сегрегации хромосом, индуцированные мутагенным воздействием в клетках-предшественниках. В отношении радиационной индукции анеуплоидии, происходящей путем формирования центромерсодержащих микроядер в потомках облученных клеток, известно, что этот процесс характеризуется очень низким выходом эффекта на единицу дозы и достижением значимого надспонтанного эксцесса только при высоких дозах облучения — от 2 до 6 Гр [26, 27]. В то же время для значительного числа разнообразных химических соединений установлена способность вызывать изменения ploидности соматических клеток при небольших концентрациях и длительностях экспозиции, и в модельных экспериментах было показано, что действие мутагенов химической природы, как правило, характеризуется намного большей анеугенностью по сравнению с ионизирующими излучениями [28–32]. Поэтому, не исключая возможности некоторого участия ионизирующей радиации в индукции анеуплоидии у эвакуантов, наиболее вероятной причиной возникновения основной части гиперплоидных клеток, как и в случае aberrаций хроматидного типа, следует считать действие химических мутагенов.

Что касается полиплоидов, то наличие их повышенной частоты у эвакуированных жителей Чернобыльской зоны, на наш взгляд, не следует связывать напрямую с действием ионизирующей радиации или химических мутагенов. Известно, что радиационно-индуцированная полиплоидизация является преимущественно «ме-

ханической» — возникает из-за образования анафазных дицентрических мостов с последующим слиянием митотически заблокированных дочерних ядер и удвоением хромосомного набора вместе со всеми aberrациями в следующем пострадиационном митозе [33]. В нашем исследовании у лиц чернобыльского контингента такие полиплоиды с удвоенными aberrациями, характерные для действия ионизирующей радиации, не наблюдались. В случае же химического воздействия полиплоидизация происходит при насыщении всех сайтов-мишеней тубулина и полном ингибировании веретена деления, т.е. является конечной стадией (сатурационным эффектом) анеуплоидизации по отдельным хромосомам и достигается при высоких концентрациях химических мутагенов [30–32]. Выявление полиплоидов *in vivo* в таком случае должно происходить на фоне наличия большого числа клеток с различной степенью анеуплоидии, что не соответствует спектру геномных нарушений у эвакуантов.

По нашему мнению, достаточно вероятной альтернативой возникновения полиплоидов вследствие митотического блока является индукция данного вида геномных нарушений по механизму эндорепликации хромосом в клетках-предшественниках. Вполне возможно, что эндорепликация хромосом выступает неспецифической адаптивной реакцией клеток на стресс, проявляющейся в виде блокирования системы контроля над процессом репликации хромосом, чем достигается тотальная амплификация генома для его превентивной защиты от потенциальных утрат хромосомного материала при действии каких-либо генотоксических агентов. При нормальном протекании последующих митозов лимфоцитпрекурсоров с эндореплицированными хромосомами этот вид геномных нарушений будет трансформироваться в полиплоидию в зрелых периферических лимфоцитах. Вероятными медиаторами запуска процесса эндорепликации могут выступать уже упоминавшиеся кластогенные факторы плазмы крови, факт присутствия которых у лиц чернобыльского контингента был показан в работах [34, 35]. С позиции гипотезы о стресс-зависимом механизме полиплоидизации клеток можно предположить, что достоверно повышенная частота полиплоидных

лимфоцитов у молодых женщин-эвакуанток по сравнению с мужчинами и женщинами зрелого возраста обусловлена особенностями эндокринного статуса и более высокой реактивностью системы нейрогуморального гомеостаза у представительниц этой поло-возрастной категории, что в условиях психологического и физического стресса («катастрофа — эвакуация») привело к усиленной индукции эндогенных факторов, индуцирующих эндорепликацию клеточного генома.

Динамика радиационно-неспецифических эффектов у эвакуантов характеризовалась бифазностью, а именно включала достаточно длительное плато частоты хроматидных обменов, фрагментных aberrаций обоих типов и полиплоидов с началом четко выраженного элиминационного тренда только через 1–2 года после выхода из зоны ЧАЭС. Такие особенности поведения указанных видов перестроек хромосом и геномных нарушений можно объяснить спецификой реализации цитогенетических эффектов, индуцируемых химическими мутагенами *in vivo*. Генотоксическое действие химических агентов характеризуется пролонгированностью; их метаболизм и выведение из организма человека требуют определенного времени, в течение которого будут синхронно протекать два противоположных процесса — элиминация aberrантных и анеуплоидных клеток и образование повреждений *de novo*. Судя по полученным данным, у эвакуантов в ранние сроки после выхода из зоны аварии интенсивность накопления хромосомных повреждений не только полностью компенсировала, но и количественно превосходила элиминацию, что выражалось в устойчивом плато частоты хроматидных aberrаций и парных хромосомных фрагментов. Кроме того, вероятным дополнительным источником начальной стабильности уровня парных фрагментов в исследованной чернобыльской когорте выступал процесс репликативной трансформации одиночных фрагментов при их трансмиссии из лимфоцитпрекурсоров в зрелые лимфоциты, который мог приобретать количественную значимость в условиях достаточно длительной задержки химических агентов в организме. В пользу изложенной гипотезы свидетельствует факт более явной и длительной повышенности

уровня хроматидных перестроек у эвакуантов, вывезенных из зоны ЧАЭС в течение 3–11 сут после аварии, по сравнению с лицами, эвакуированными в первые 2 дня, а также синхронизированность и качественная сопряженность направлений динамики одиночных и парных фрагментов в указанных группах. Наиболее вероятной причиной отличий между лицами с различными сроками эвакуации явилась разная степень химической мутагенной нагрузки, которая зависела от длительности пребывания в зоне ЧАЭС.

По окончании фазы плато динамика частоты aberrаций и полиплоидов у эвакуантов носила характер постепенного снижения с течением времени после экспозиции, что в итоге приводило к выходу исследованных показателей на субконтрольные значения в конце 14-летнего периода наблюдений. Данная картина отражает естественный процесс старения и гибели зрелых aberrантных и полиплоидных лимфоцитов в сочетании с негативной селекцией цитогенетических повреждений в лимфоцитпрекурсорах.

Наблюдавшаяся у эвакуантов ускоренная элиминация гиперплоидных клеток по сравнению с полиплоидами позволяет предположить, что дисбаланс генома клеток-предшественников, вызванный наличием одной лишней хромосомы, является более летальным для потомков анеуплоидных лимфоцитпрекурсоров, чем тотальная эндорепликация всех хромосом, ведущая к образованию тетраплоидов. Другим объяснением может служить продленное действие стресс-зависимого механизма индукции полиплоидов, особенно если принять во внимание способность кластогенных факторов сохранять свое присутствие в плазме крови длительное время после экспозиции [34, 35].

Несмотря на общий элиминационный тренд динамики частоты aberrаций хромосом и геномных нарушений у эвакуантов, на наш взгляд, было бы преждевременным констатировать полную нормализацию цитогенетического статуса данной когорты. В лимфоцитах крови эвакуированных жителей г. Припять и 30-км зоны ЧАЭС в отдаленные сроки после катастрофы присутствует достоверно повышенный уровень стабильных хромосомных перестроек, значительную часть которых предс-

тавляют делетированные хромосомы, являющиеся результатом утери фрагментов, а также неполные транслокации, имеющие ограниченную специфичность по отношению к ионизирующим излучениям и возникающие как продукт трансформации хроматидных обменов [17]. Такая картина отражает процессы текущего неспецифического мутагенеза в лимфоцитпрекурсорах и позволяет предполагать потенциальную возможность экспрессии повышенной ломкости хромосом в зрелых периферических лимфоцитах, наследующих исходно дестабилизированный хромосомный аппарат. Как известно, феномен вторичного накопления уровня нестабильных aberrаций уже обнаруживался в одной из чернобыльских когорт — у ликвидаторов — спустя 6–12 лет после выхода из зоны ЧАЭС [20, 21, 36–38]. Вполне вероятно, аналогичный эффект может развиваться и в случае эвакуантов, но с учетом менее длительного и менее интенсивного мутагенного воздействия факторов аварийной ситуации в зоне ЧАЭС будет отчетливо детектироваться в еще более отдаленные сроки по сравнению с ликвидаторами. Несомненная опасность генетической нестабильности соматических клеток для организма человека обуславливает необходимость продления цитогенетического мониторинга эвакуированного населения г. Припять и 30-км зоны ЧАЭС для своевременного выявления индивидов с повышенным риском развития отдаленных соматостохастических эффектов с генетической компонентой.

Выводы. В лимфоцитах крови эвакуантов из 30-км зоны аварии ЧАЭС в ранние сроки после экспозиции присутствовал значительно повышенный уровень хромосомных фрагментов, aberrаций хроматидного типа, гипер- и полиплоидов, что явилось результатом действия комплекса генотоксических факторов аварийной ситуации в зоне ЧАЭС на хромосомный аппарат соматических клеток человека.

Начально-индуцированная частота хроматидных обменов оказалась более высокой у взрослых мужчин-эвакуантов, чем у женщин и детей, а частота полиплоидии была повышенной у женщин 23–35 лет относительно значений показателя у мужчин и женщин зрелого возраста. Надспонтанный эксцесс частоты пар-

ных и одиночных фрагментов у эвакуантов не зависел от факторов пола и возраста, однако в первые два года после экспозиции направления динамики фрагментов разного типа проявили взаимную сопряженность: у эвакуированных в течение 2 сут после аварии наблюдались параллельные элиминационные тренды для обоих видов aberrаций, а у лиц, покинувших зону ЧАЭС через 3–11 сут, происходило синхронное повышение частоты парных и одиночных фрагментов.

В целом по выборке эвакуантов картина динамики цитогенетических эффектов характеризовалась начальным плато частоты хроматидных обменов, парных фрагментов и полиплоидов в течение одного года, одиночных фрагментов — в течение двух лет после выхода из зоны аварии, с последующей сменой тренда на элиминацию aberrаций и геномных нарушений. В конце 14-летнего периода наблюдений у эвакуантов не наблюдалось статистически значимых отличий от контроля по частоте всех исследованных видов повреждений хромосомного аппарата, однако нельзя исключать возможность развития нестабильности генома соматических клеток в этой когорте в еще более отдаленные сроки после действия генотоксических факторов аварийной ситуации в зоне ЧАЭС.

SUMMARY. The time-effect relationship for chromatid type aberrations, chromosome type fragments, hyperploidy and polyploidy levels in peripheral blood lymphocytes were investigated in inhabitants of t. Pripiat' and nearby villages, who were departed from the Chernobyl NPP 30-km exclusive zone during first days after the Chernobyl catastrophe. The time-course changes of the mentioned cytogenetic indices in evacuees were displayed as a gradual decline of chromosomal rearrangements and genome abnormality frequencies from the statistically elevated level in the first 1–2 years after the accident to the subcontrol meanings at the end of the 14-years observation period. In early terms after exposure the frequency of chromatid exchanges in adult men and the polyploidy level in women aged 23–35 years were sufficiently increased comparing with other evacuee subgroups. Some peculiarities of the fragment aberration frequency dynamics were shown for persons with different terms of the departure from the Chernobyl zone. The role of the combination of mutagenic factors acted in the accidental situation at Chernobyl for inducing the elevated level of cytogenetic damage in evacuees is discussed.

РЕЗЮМЕ. Представлено результати дослідження динаміки частоти aberrаций хроматидного типу, ацент-

ричних подвійних фрагментів, гіпер- і поліплоїдії в лімфоцитах крові евакуйованих мешканців м. Прип'ять та інших населених пунктів 30-км зони ЧАЕС. Зміни вказаних цитогенетичних показників у евакуантів проявилися у вигляді поступового зниження частоти структурних перебудов хромосом і геномних порушень від вірогідно підвищеного рівня в перші 1–2 роки після аварії до субконтрольних значень наприкінці 14-річного періоду спостережень. В ранні терміни після експозиції у дорослих чоловіків-евакуантів визначалася більш висока частота хроматидних обмінів, а у жінок 23–35 років — підвищений рівень поліплоїдії порівняно з іншими підгрупами. Показано відмінності характеру змін частоти фрагментних аберацій в осіб із різними строками евакуації. Обговорюється роль комплексу мутагенних чинників аварійної ситуації в зоні ЧАЕС в індукції підвищеного рівня цитогенетичних пошкоджень у евакуантів.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шевченко В.А., Семов А.Б., Акаева Э.А., Елисова Т.Н., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Стефан Г., Ромм Х., Буркарт В. Цитогенетические эффекты у лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1995. — 35, вып. 5. — С. 646–654.
2. Maznik N.A., Vinnikov V.A., Lloyd D.C., Edwards A.A. Chromosomal dosimetry for some groups of evacuees from Prypiat and ukrainian liquidators // Radiat. Protect. Dosimetry. — 1997. — 74, № 1/2. — P. 5–11.
3. Пилинская М.А., Дыбский С.С. Частота стабильных хромосомных абераций, установленная с помощью метода FISH у 49 ликвидаторов Чернобыльской аварии с различными дозами облучения // Цитология и генетика. — 2001. — 35, № 4. — С. 50–54.
4. Мазник Н.О. Стабільні аберації хромосом як довгостроковий маркер радіаційного впливу // Укр. радіол. журн. — 2003. — 11, вип. 1. — С. 106–118.
5. Пилинская М.А., Шеметун А.М., Дыбский С.С., Редько Д.В., Еремеева М.Н. Цитогенетический эффект в лимфоцитах периферической крови как индикатор действия на человека факторов Чернобыльской аварии // Радиобиология. — 1992. — 32, вып. 5. — С. 632–639.
6. Шишмарев Ю.Н., Алексеев Г.И., Никифоров А.М., Ларченко Г.К., Криворучко А.А., Пронин М.А., Иванов И.А. Клинические аспекты последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Радиобиология. — 1992. — 32, вып. 3. — С. 323–332.
7. Воробцова И.Е., Михельсон В.М., Воробьева М.В., Плескач Н.М., Богомазова А.Н., Прокофьева В.В., Пюккенен А.Ю. Результаты цитогенетического обследования ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, проведенного в разные годы // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1994. — 34, вып. 6. — С. 798–804.
8. Мазник Н.А., Винников В.А. Динамика цитогенетических эффектов в лимфоцитах периферической крови ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Цитология и генетика. — 1997. — 31, № 6. — С. 41–47.
9. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены окружающей среды. — М.: Медицина, 1989. — 270 с.
10. Пилинская М.А., Шеметун А.М., Бондарь А.Ю., Дыбский С.С. Цитогенетический эффект в соматических клетках лиц, подвергшихся радиационному воздействию в связи с аварией на Чернобыльской АЭС // Вестн. АМН СССР. — 1991. — № 8. — С. 40–43.
11. Бездробная Л.К., Цыганок Т.В., Романова Е.П., Тарасенко Л.В., Федорченко В.И. Динамическое исследование цитогенетических эффектов в лимфоцитах крови людей, несанкционированно проживающих в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2002. — 42, № 6. — С. 727–730.
12. Natarajan A.T., Rohini C.V., Wiegant J., Curado M.P. A cytogenetic follow-up study of the victims of a radiation accident in Goiania (Brazil) // Mutat. Res. — 1991. — 247. — P. 103–111.
13. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment / IAEA Techn. Report Series № 405. — Vienna, 2001. — 127 p.
14. Домрачева Е.В., Бриллиант М.Д., Воробьев А.И., Гулина Г.П. К проблеме радиационного лейкозогенеза // Гематология и трансфузиология. — 1990. — 35, № 6. — С. 3–9.
15. Mikhalevich L.S., Lloyd D.C., Edwards A.A., Perepetskaya G.A., Kartel N.A. Dose estimates made by dicentric analysis for some belarussian children irradiated by the Chernobyl accident // Radiat. Protect. Dosimetry. — 2000. — 87, № 2. — P. 109–114.
16. Воробцова И.Е., Воробьева М.В., Богомазова А.Н., Пюккенен А.Ю., Архангельская Т.Б. Цитогенетическое обследование детей Санкт-Петербургского региона, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС. Частота нестабильных хромосомных абераций в лимфоцитах периферической крови // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1995. — 35, вып. 5. — С. 630–635.
17. Мазник Н.А., Винников В.А. Уровень абераций хромосом в лимфоцитах периферической крови у эвакуантов из 30-км зоны ЧАЭС и жителей радиоактивно загрязненных территорий в отдаленные сроки после Чернобыльской аварии // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2002. — 42, № 6. — С. 704–710.
18. Бочков Н.П. Анализ типов аберрантных клеток — необходимый элемент биологической индикации облучения // Мед. радиология. — 1993. — № 2. — С. 32–35.
19. Lazutka J. R. Chromosome aberrations and rogue cells in lymphocytes of Chernobyl clean-up workers // Mutat. Res. — 1996. — 350. — P. 315–329.
20. Slozina N., Neronova E., Kharchenko T., Nikiforov A. Increased level of chromosomal aberrations in lymphocytes of Chernobyl liquidators 6–10 years after accident // Mutat. Res. — 1997. — 379. — P. 121–125.

21. Слосина Н.М., Геронова Е.Г., Линская М.Н., Никифоров А.М. О некоторых сложностях в оценке радиационно-индуцированных мутагенных эффектов у человека // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2002. — 42, № 6. — С. 684–686.
22. Севаньяев А.В. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. — М.: Энергоатомиздат, 1987. — 160 с.
23. Lloyd D.C., Moquet J.E. The clastogenic effect of irradiated human plasma // Int. J. Radiat. Biology. — 1985. — 47, № 4. — P. 433–444.
24. Darroudi F., Natarajan A. Application of FISH chromosome painting assay for dose reconstruction: state of art and current views // Radiat. Protec. Dosimetry. — 2000. — 88, № 1. — P. 51–58.
25. Сусков И.И., Кузьменко Н.С., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Агаджанян А.В., Рубцова Г.А., Шевченко В.А., Кузина Н.Ю., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Дисгенотические эффекты у детей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами // Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций: Тез. докл. Международ. конф. — М.: Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, 2002. — С. 117–118.
26. Eastmond D.A., Tucker J.D. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochores antibody // Environm. and Mol. Mutagen. — 1989. — 13. — P. 34–43.
27. Vral A., Thierens H., De Ridder L. In-vitro micronucleus-centromere assay to detect radiation-damage induced by low doses in human lymphocytes // Int. J. Radiat. Biology. — 1997. — 71, № 1. — P. 61–68.
28. Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals // WHO Environmental Health Criteria 51. — Geneva: World Health Organisation, 1985. — 208 p.
29. Natarajan A.T., Parry J.M. The detection of aneuploidic chemicals // Mutat. Res. — 1993. — 287. — P. 1–10.
30. Athwal R.S., Sandhu S.S. Use of a human × mouse hybrid cell line to detect aneuploidy induced by environmental chemicals // Mutat. Res. — 1985. — 149. — P. 73–81.
31. Sandhu S.S., Gudi R.D., Athwal R.S. A genetic assay for aneuploidy: quantitation of chromosome loss using a mouse/human monochromosomal hybrid cell line // Mutat. Res. — 1988. — 201. — P. 423–430.
32. Gudi R., Sandhu S.S., Athwal R.S. Kinetochore identification in micronuclei in mouse bone-marrow erythrocytes: an assay for the detection of aneuploidy-inducing agents // Mutat. Res. — 1990. — 234. — P. 263–268.
33. Kaplan M.I., Limoli C.L., Morgan W.F. Perpetuating radiation-induced chromosomal instability // Radiat. Oncol. Invest. — 1997. — 5. — P. 124–128.
34. Emerit I., Quastel M., Goldsmith J., Merkin L., Levy A., Cernjavski L., Alaoui-Youssefi A., Pogossian A., Riklis E. Clastogenic factors in the plasma of children exposed at Chernobyl // Mutat. Res. — 1997. — 373. — P. 47–54.
35. Emerit I., Oganessian N., Arutyunian R., Pogossian A., Sarkisian T., Cernjavski L., Levy A., Feingold J. Oxidative stress-related clastogenic factors in plasma from Chernobyl liquidators: protective effects of antioxidant plant phenols, vitamins and oligoelements // Mutat. Res. — 1997. — 377. — P. 329–246.
36. Винніков В.А., Мазник Н.О., Гайсенюк Л.О., Роздільський С.І. Цитогенетичні ефекти у ліквідаторів у віддалені терміни після опромінення // Укр. радіол. журн. — 1997. — № 1. — С. 16–18.
37. Шевченко В.А., Снигирева Г.П. Цитогенетические последствия воздействия ионизирующих излучений на популяции человека // Последствия Чернобыльской катастрофы: здоровье человека / Под. ред. Е.Б. Булаковой. — М.: ЦЭПР-НСР, 1996. — С. 24–49.
38. Снигирева Г.П., Новицкая Н.Н., Хазинс Е.Д., Вилкина Г.А. Отдаленные цитогенетические эффекты у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Проблемы радиационной генетики на рубеже века: Тез. докл. Международ. конф. — М.: Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, 2000. — С. 331–332.

Поступила 15.03.04