

N. I. Ryabokon (&) · R. I. Goncharova
Institute of Genetics and Cytology,
National Academy of Sciences of Belarus,
Akademichnaya street 27, 220072 Minsk,
Republic of Belarus
E-mail: nrabakon@yahoo.com
Tel.: +375-172-841918
Fax: +375-172-841917
ORIGINAL PAPER

Nadezhda I. Ryabokon · R. I. Goncharova

Accumulation transgénérationnelle des dommages radiologiques chez les petits mammifères chroniquement exposés aux retombées de Tchernobyl

Reçu le 5 mars 2006 /accepté le 17 Juin 2006 /Publié en ligne le 22 juillet 2006 ♥ Springer-Verlag 2006

Résumé : Le but de cette étude est d'analyser le développement à long terme du dommage biologique dans les populations naturelles d'un modèle d'espèce mammifère, le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*, Schreber), qui a été chroniquement exposé à de faibles doses de rayonnements ionisants sur 22 générations pendant les 10 années suivant l'accident de Tchernobyl. L'évolution temporelle des points limites biologiques (*endpoints* : aberrations chromosomiques dans la moelle osseuse et létalité des cellules embryonnaires) a été comparée avec l'évolution temporelle du taux de dose corporelle absorbée par irradiation interne et externe dans les populations étudiées habitant certains sites d'observation au Belarus, qui présentent différents niveaux de contamination de radionucléides au sol. La proportion d'aberrations chromosomiques et, dans une moindre mesure, de létalité embryonnaire a été associée de façon dose-dépendante à la contamination par des radionucléides dans les zones étudiées. Caractéristiques principales du développement à long terme du dommage biologique par irradiation à des taux de faibles doses, des niveaux constamment élevés d'aberrations chromosomiques et une fréquence croissante de létalité embryonnaire se sont développés sur 22 générations animales. Ceci contraste avec l'hypothèse que le dommage biologique disparaîtrait progressivement du fait que, dans la même période de temps, le taux de dose corporelle absorbée diminue exponentiellement avec un temps de demi-valeur d'environ 2,5–3 ans. En outre, des femelles enceintes ont été capturées, et leur descendance, née et élevée dans les conditions non contaminées de laboratoire, a montré le même niveau renforcé d'aberrations chromosomiques. Ainsi les auteurs suggèrent que, avec le dommage biologique attribuable à l'exposition individuelle de chaque animal, les effets cellulaire et systémique observés reflètent la transmission et l'accumulation transgénérationnelles du dommage imputable à l'irradiation chronique à des taux de faible dose des générations précédentes, par les voies génétiques et/ou épigénétiques. Ils suggèrent également que le niveau de dommage transmissible accumulé dans les populations étudiées diminuera à l'avenir, en raison de la récession de l'exposition chronique et en conséquence du processus de sélection.

Introduction

L'accident de Tchernobyl en avril 1986 a entraîné le dépôt de radionucléides partout en Europe, suivi d'une augmentation à long terme de la radioactivité artificielle de fond [1]. En plus du sujet classique de mutagenèse après irradiation aiguë [2], l'étude de l'évolution temporelle du dommage biologique chronique associé à l'irradiation chronique à faibles doses des mammifères et les tentatives pour prévoir des dommages biologiques dans les générations suivantes est devenue une question pertinente. Comme il y a peu d'informations sur ce sujet [3, 4], le travail actuel aborde ces questions importantes. A partir de 1986, nous nous sommes engagés à étudier les effets biologiques des irradiations chroniques à faibles doses chez les populations naturelles du campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*, Schreber) au cours de nombreuses générations animales.

Le campagnol roussâtre est une espèce de rongeur couramment utilisée comme indicateur de qualité environnementale. C'est un objet d'étude qui se prête parfaitement à de nombreux tests génétiques, utilisé à l'origine comme souris de laboratoire [5]. La comparaison des données propres et de la littérature sur les effets du doublement des doses d'irradiation aiguë sur les chromosomes montre que la sensibilité des cellules somatiques du campagnol roussâtre aux rayonnements ionisants est très semblable à la sensibilité des lymphocytes humains et des cellules germinales de souris de laboratoire [6]. Cette découverte confirme que le campagnol roussâtre est un modèle approprié pour l'évaluation des risques génétiques de l'irradiation des mammifères. Selon l'Atlas des dépôts de Césium en Europe [1], pratiquement tous les territoires du Bélarus sont contaminés par le ^{137}Cs à un niveau supérieur au niveau global des retombées. Un niveau de

contamination des terrains par le ^{137}Cs égal à 37 kBq/m^2 (1 Ci/km^2) a été choisi pour discriminer les régions dites "nettoyées" des régions contaminées. Nous avons sélectionné des sites de surveillance représentant de grandes régions du Bélarus avec un fort gradient de dépôts de radionucléides au sol, de 8 à $8\,500 \text{ kBq/m}^2$ de ^{137}Cs , c'est-à-dire : de la contamination légère dans les régions "propres" à la contamination forte dans la zone évacuée. En comparaison avec les données pré-Tchernobyl, les fréquences d'aberrations chromosomiques et de mutations génomiques de cellules somatiques, de têtes de spermatozoïdes anormales et de pertes embryonnaires sont constatées en augmentation chez les populations de campagnol roussâtre dans les sites surveillés [7, 8]. Le but de la présente étude est d'analyser l'évolution à long terme de la fréquence d'aberrations chromosomiques et de létalité embryonnaire chez les populations animales de campagnol roussâtre sur 22 générations vivant entre 1986 et 1996 et de la comparer à l'évolution temporelle du taux de dose absorbée par le corps entier au cours du temps.

Matériel et méthodes

Sites d'observation.

Les animaux ont été capturés sur cinq sites d'observation, dans les grandes régions forestières à activité humaine réduite, loin des sources possibles de pollution industrielle ou domestique. Ces sites se trouvent à différentes distances et directions de la centrale nucléaire de Tchernobyl (Fig. 1) et présentent différents niveaux de contamination par les radionucléides : site 1 — la réserve de Priluksky, région de Minsk, 330 km NO ; site 2 — la Réserve de la Biosphère Bérézinsky, région de Vitebsk, 400 km NNO ; site 3 — le voisinage du village de Majsk, district de Bragin, région de Gomel, 60 km N ; site 4 — le voisinage du village de Babchin village, district de Khoïniki, région de Gomel, 40 km NNO ; site 5 — le voisinage du village évacué de Radin, district de Khoïniki, région de Gomel, 18 km N. Le tableau 1 présente les niveaux initiaux de contamination au sol par les radionucléides, qui ont été relevés auparavant sur ces sites [9]. Les animaux ont été capturés vivants au moyen de pièges avec boîte. Les premiers animaux ont été capturés sur les sites 1, 3 et 4 en septembre 1986, soit cinq mois après la période de forte irradiation par les radionucléides de demi-vie courte et longue. Au cours des années suivantes, les animaux ont été également capturés pendant les mois d'août-septembre afin d'exclure les influences des changements saisonniers dans la structure d'âge des populations sur les données.

Les données obtenues hors de cette période de capture (par exemple, les données du site 1 en 1991 et 1996 [7, 8]) n'ont pas été intégrés à cette étude. Les études sur les sites 2 et 5 ont commencé en 1991 et 1996, respectivement, soit cinq et dix ans après l'accident.

Évaluation de l'âge de l'animal et des changements dans les générations animales

Pour déterminer l'âge, on a mesuré la racine, la couronne et la hauteur de la première molaire mandibulaire (M2), selon Bashenina [10]. Les spécimens ont été répartis en sept groupes d'âge, correspondant environ à 2 semaines, 1, 2, 3 et 4 mois, 1 an et 1,5 an. Le campagnol roussâtre, comme les autres espèces de rongeurs, est connu pour son cycle de reproduction court, avec un changement complet d'environ 2 – 3 générations par an [10]. Selon les données de Rozhdestvenskaya [11] et nos propres estimations concernant la participation animale dans la reproduction, ceci vaut également pour les populations étudiées dans ce travail. En raison de la reproduction saisonnière et de la courte durée de vie, dans les périodes de piégeage à la fin de l'été et au début de l'automne, seulement quelques animaux nés l'année précédente ont été étudiés sur les sites d'observation, ce qui montre qu'au moment de l'observation, les populations étaient presque entièrement renouvelées depuis l'année précédente.

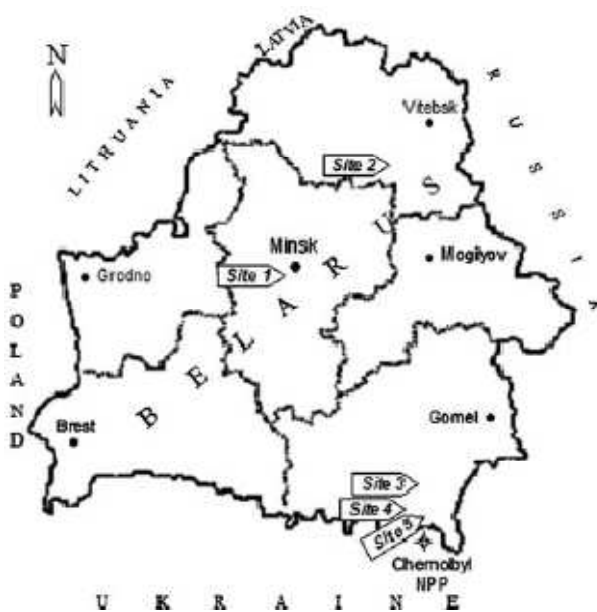


Fig. 1 Carte du Bélarus avec localisation de la surveillance sites. La position de la centrale nucléaire de Tchernobyl (ChNPP) dans le pays voisin de l'Ukraine est également indiquée

Tableau 1 Densités de contamination des sols par les radionucléides (kBq/m²) pour 5 sites d'observation (données d'avril-mai 1986 pour ¹³⁷Cs, ¹³⁴Cs, ¹⁰⁶Ru, ¹⁴⁴Ce et données d'août 1996 pour ⁹⁰Sr et radionucléides transuraniens) selon les données [9] :

Site	Avril-Mai 1986				Août 1996				
	¹³⁷ Cs	¹³⁴ Cs	¹⁰⁶ Ru	¹⁴⁴ Ce	⁹⁰ Sr	²³⁸ Pu	^{239,240} Pu	²⁴¹ Pu	²⁴¹ Pu
1	8	4	5	0	4	0,04	0,10	2,98	0,14
2	18	9	12	0	5	0,07	0,14	5,10	0,19
3	220	140	150	440	39	0,62	1,28	48,80	1,81
4	1 530	1 020	1 090	3 050	117	1,17	2,35	86,70	3,21
5	8 500	5 650	5 790	17 200	1 200	4,90	11,00	420,00	15,00

Les populations vivant au moment de l'accident, au début du printemps de 1986, se composaient donc d'animaux adultes nés l'année précédente. En raison du renouvellement des générations, nos enquêtes ont commencé, à compter de septembre 1986, avec les première et deuxième générations post-accidentelles de campagnols roussâtres. Dans la période de 1986 à 1996, au moins 22 générations ont été étudiées.

Détermination des radionucléides concentration et estimation de la dose absorbée

Des concentrations de radionucléides présents dans les sols et dans tout le corps des échantillons animaux ont été établies comme décrit dans [9]. En bref, la spectrométrie γ des échantillons a été réalisée au Centre des Populations du Bélarus à Minsk, au moyen du spectromètre γ ADCAM-300 équipé d'un détecteur GEM-30185 à germanium d'un haut degré de pureté (EG & G Ortec, USA). Les activités spécifiques du ⁹⁰Sr et des éléments transuraniens ont été déterminées par l'équipe de l'Institut de Radiobiologie, Académie Nationale des Sciences du Bélarus, en utilisant les méthodes radiochimiques et le spectromètre α Ortec 576A équipé d'un détecteur au silicium présentant une faible barrière de surface (EG & G Ortec, USA), le compteur à scintillation liquide Tricarb 2700TR (Packard Company) et un compteur *gaz-flow* (Tesla Automat, Slovaquie).

Les taux de dose dus à l'exposition interne et externe ont été évalués chez les spécimens étudiés comme décrit précédemment [9]. Le taux de dose corporelle absorbée des radionucléides incorporés émetteurs γ a été calculé selon le modèle de fraction absorbée. Pour la dose imputable aux émetteurs α et β incorporés, nous avons utilisé le modèle d'absorption locale. La dose corporelle absorbée est calculée comme le produit du taux de dose corporelle absorbée par l'individu et de l'âge de l'animal au moment de sa capture.

Analyse des aberrations chromosomiques au cours de la métaphase

Des effets cytogénétiques ont été étudiés sur les cellules somatiques du campagnol roussâtre, par analyse des aberrations chromosomiques au cours de la métaphase dans les cellules de la moelle osseuse rouge, selon un protocole standard [12] comme décrit en [7, 8]. En bref, des animaux apparemment sains, d'âge, de sexe et de

maturité différents ont été choisis au hasard pour ce test, parmi de nombreux groupes d'animaux capturés peu après le piégeage. Une concentration de colchicine de 0,1 mg par 10 g de poids animal a été injectée par voie intrapéritonéale pendant 1h30 pour accumuler les métaphases. Les animaux ont été sacrifiés par éther éthylique et dislocation cervicale, et la moelle osseuse du fémur a été aspirée au moyen du sérum bovin fœtal inactivé. La suspension de moelle a été incubée à 37 °C pendant 20 min, traitée avec du chlorure de potassium à 0,56 % pendant les 20 min suivantes et fixée dans du méthanol : acide acétique (3 : 1 v/v). Les cellules fixées ont été étalées sur des lamelles propres, séchées à la flamme et teintées au Giemsa. Les diapositives codées ont été examinées pour des aberrations de type chromatidiques et chromosomiques dans environ 100 métaphases bien étalées par spécimen, selon les critères standards [12, 13]. Les lésions achromatiques (écarts) ne figurent pas dans l'analyse statistique.

Groupements d'âges

Les aberrations chromosomiques et pertes de l'embryon ont été également enregistrées dans les cohortes sélectionnées d'animaux matures âgés de 2 à 4 mois, afin d'éviter de biaiser les effets biologiques par l'âge. En outre, deux femelles enceintes ont été emmenées dans un laboratoire de Minsk, où elles ont mis bas peu après leur capture. Les mères et leur descendance ont été nourries avec des aliments non contaminés et les aberrations chromosomiques dans les cellules de moelle osseuse ont été étudiées lorsque la descendance a atteint l'âge d'un mois et demi.

Analyse des pertes d'embryon

La mortalité embryonnaire a été constatée chez toutes les femelles capturées et apparemment saines, de 7 à 22 jours de grossesse, conformément aux protocoles conventionnels [14]. Le contenu de l'utérus a été examiné pour déterminer le nombre d'implants, embryons vivants et morts. Les pertes précoces (pré-implantation) ont été calculées par le rapport (nombre de corps jaunes moins nombre des implants)/(nombre de corps jaunes) ; et les pertes tardives (post-implantation) par le rapport entre le nombre d'embryons morts et le nombre d'implants. Le nombre de pertes totales a été déterminé par le rapport (nombre de corps jaunes moins

nombre d'embryons vivants)/(nombre de corps jaunes). Tous ces rapports sont exprimés en pourcentage.

Statistiques

Le test du Khi-deux, le test U de Mann-Whitney, l'analyse régressive et corrélative ont été utilisés à partir du logiciel Statistica (StatSoft Inc, USA). La figure 2 donne un exemple de la dispersion de la fréquence d'aberrations individuelles et des données de la dose corporelle pendant l'étude, sur un site donné et à une saison donnée (site 4, analysé cinq ans après l'accident). Par la suite, ces fluctuations ont été représentées par la valeur moyenne et la déviation standard de la moyenne.

Résultats

Évolution temporelle des taux de doses absorbées

L'évolution des taux de doses absorbées au cours du temps par les populations de campagnol roussâtre des sites contrôlés a été déterminée précédemment [9] à partir de nombreux groupes d'animaux capturés. Il a été montré que les irradiations externes γ et internes β par incorporation du ^{137}Cs et du ^{134}Cs contribuent très fortement au taux de dose corporelle au-delà de la période de contrôle, commencée cinq mois après l'accident avec les première et deuxième générations d'animaux suivant l'accident et achevée en 1996 après 22 générations d'animaux environ. [9]

Ici, nous avons analysé l'évolution temporelle du taux de dose corporelle absorbée due à l'irradiation β interne et à l'irradiation totale spécifiquement par ces animaux qui, de toutes les cohortes, ont été choisis au hasard pour l'évaluation des aberrations chromosomiques (Tableau 2; Fig. 3a, b) et de la mortalité embryonnaire (Tableau 3; Fig. 3c, d). Les valeurs du taux de dose corporelle et leur développement temporel dans ces sous-cohortes d'animaux étaient similaires à celles des grands groupes de campagnol roussâtre observés au cours des premiers examens dosimétriques parmi les populations [9]

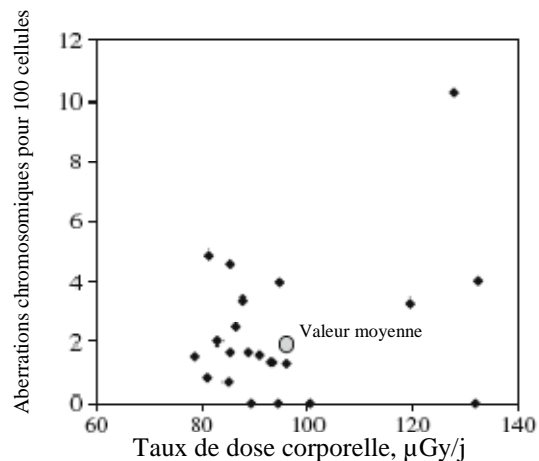


Fig. 2 Corrélation de la fréquence des aberrations chromosomiques des cellules de la moelle osseuse chez le campagnol roussâtre vivant sur le site 4, avec les doses corporelles absorbées cinq ans après l'accident de Tchernobyl. Les taux de doses sont dus à l'irradiation externe γ et interne $\gamma + \beta$ des ^{137}Cs et ^{134}Cs incorporés.

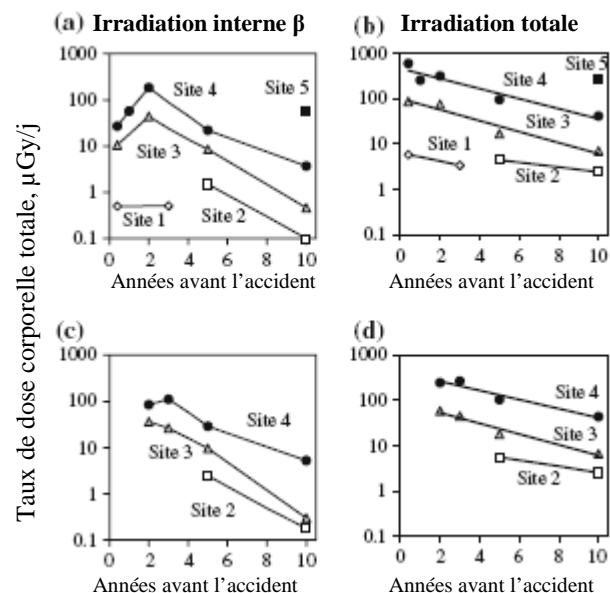


Fig. 3 Évolution temporelle des taux de doses corporelles moyennes absorbées par les spécimens de campagnol roussâtre capturés sur les sites 1-5 et pour étudier les aberrations chromosomiques (a, b) et la mortalité embryonnaire (c, d). Les contributions d'irradiation- β interne de ^{137}Cs et ^{134}Cs incorporés sont présentées en a et c, les doses corporelles par irradiation- γ externe et irradiation $\gamma + \beta$ interne de ^{137}Cs et ^{134}Cs incorporés sont montrés, ensemble avec les courbes exponentielles d'approximation, en b et d. Pour plus de clarté, les barres d'erreurs ne sont pas représentées.

Tableau 2 Les aberrations chromosomiques des cellules de la moelle osseuse chez le campagnol roussâtre des cinq sites d'observation :

Site	Année	Génération animale depuis l'accident	Dose corporelle absorbée (μGy/jour)	Nombre de mutations analysées		Aberrations pour 100 cellules ± SD			Cellules aberrantes, %
				animaux	cellules	chromatide	chromosome	total	
1	1986	1-2	6.44 ± 0.14	10	992	0.30 ± 0.14	0.10 ± 0.09	0.40 ± 0.22	0.40 ± 0.22
	1988	5-6	3.36 ± 0.02	3	310	0.64 ± 0.32	0	0.64 ± 0.32	0.64 ± 0.32
2	1981-1983a	Pre-accident	-	24	2,437	0.41 ± 0.12	0	0.41 ± 0.12	0.41 ± 0.12
	1991	11-12	4.43 ± 0.38	19	1,945	1.19 ± 0.37	0.03 ± 0.03	1.22 ± 0.37 ^b	1.22 ± 0.37
	1992	13-14	-	17	1,962	0.90 ± 0.27	0.27 ± 0.17	1.17 ± 0.13	1.09 ± 0.24
	1996	21-22	2.41 ± 0.03	8	585	1.06 ± 0.54	0.11 ± 0.11	1.17 ± 0.53	1.17 ± 0.53
3	1986	1-2	87.52 ± 4.50	18	1,987	1.36 ± 0.45	0.76 ± 0.28	2.12 ± 0.59	1.99 ± 0.53
	1988	5-6	76.06 ± 8.90	16	1,630	1.22 ± 0.49	0.52 ± 0.18	1.74 ± 0.57	1.51 ± 0.03
	1991	11-12	16.83 ± 2.27	16	1,655	2.67 ± 0.81	0.20 ± 0.13	2.87 ± 0.83	2.49 ± 0.76
	1996	21-22	7.02 ± 0.27	11	1,121	1.86 ± 0.41	0.18 ± 0.10	2.04 ± 0.39	1.95 ± 0.38
4	1986	1-2	605.46 ± 7.75	16	1,739	1.45 ± 0.43	0.06 ± 0.06	1.51 ± 0.45	1.21 ± 0.10
	1987	3-4	258.57 ± 11.33	36	3,675	0.79 ± 0.18	0.44 ± 0.15	1.24 ± 0.24	1.10 ± 0.22
	1988	5-6	321.64 ± 33.12	21	1,942	1.75 ± 0.39	0.17 ± 0.09	1.92 ± 0.40	1.86 ± 0.04
	1991	11-12	95.93 ± 3.69	31	3,780	1.63 ± 0.34	0.31 ± 0.10	1.94 ± 0.40	1.84 ± 0.36
	1996	21-22	41.80 ± 0.96	14	1,821	1.90 ± 0.49	0.24 ± 0.15	2.14 ± 0.42	2.04 ± 0.38
5	1996	21-22	274.52 ± 7.27	11	492	4.74 ± 0.74	1.47 ± 0.61	6.21 ± 0.85	5.10 ± 0.78

a) Données pré-accidentelles selon [15]

b) Toutes les données sur le total des fréquences d'aberrations et cellules aberrantes chez les animaux des sites 2-5 en 1986-1996 étaient significativement plus élevés en comparaison avec les données pré-accidentelles par test du Khi-carré.

Tableau 3 Létalité embryonnaire dans les populations de campagnol roussâtre pour 3 sites observés :

Site	Année	Génération animale depuis l'accident	Dose corporelle absorbée (μGy/jour)	Nombre de			Moyenne de létalité embryonnaire		
				Animaux analysés	Corps jaunes	Embryons analysés/embryons morts	Avant implantation	Après implantation	Total
2	1981-1983a	Pré-accident	-	45	249	235/4	5.62 (3.11-9.25)	1.70 (0.47-4.30)	7.23 (4.34-11.18)
	1991	11-12	5.5 ± 0	12	56	56/3	0 (0.00-5.21)	5.36 (1.12-14.87)	5.36 (1.10-14.87)
	1992m	13-14	-	19	92	90/2	2.17 (0.26-7.68)	2.22 (0.27-7.80)	4.35 (1.20-10.76)
	1996	21-22	2.51 ± 0.13	8	44	39/0	11.36 (3.79-24.56)	0 (0.00-9.03)	11.36 (3.79-24.56)
3	1988	5-6	58.01 ± 5.40	7	36	36/0	0 (0.00-7.98)	0 (0.00-7.98)	0 (0.00-7.98)
	1989	7-8	44.38 ± 3.71	30	138	130/1	5.80 (2.50-11.10)	0.77 (0.02-4.21)	6.52 (3.03-12.08)
	1991	11-12	17.95 ± 2.53	14	71	65/1	8.45 (3.16-17.49)	1.54 (0.04-8.28)	9.86 (4.06-19.26)
	1996	21-22	6.58 ± 0.07	3	15	12/1	20.00* (4.33-48.09)	8.33 (0.21-38.48)	26.67* (7.74-55.10)
4	1988	5-6	245.6 ± 20.21	14	63	61/1	3.17 (0.39-11.00)	1.64 (0.04-8.80)	4.76 (0.99-13.29)
	1989	7-8	265.63 ± 34.53	40	201	192/3	4.48 (2.07-8.33)	1.56 (0.32-4.50)	5.97 (3.12-10.20)
	1991	11-12	103.78 ± 5.96	21	103	91/4	11.65* (6.27-19.76)	4.40 (1.21-10.87)	15.53* (9.15-24.00)
	1996	21-22	43.47 ± 0.87	11	51	44/4	13.73* (5.70-26.26)	9.09* (2.53-21.67)	21.57** (11.29-35.32)

a) Niveau pré-accidentel selon [16]

* $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ en comparaison avec les données pré-accident (test du Khi-carré)

Les maxima de l'irradiation β interne due aux ^{137}Cs et ^{134}Cs incorporés ont été observés deux ans après l'accident (Fig. 3a, c), du fait de la présence biologique croissante d'isotopes de césium dans le biote [7-9], suivie d'une diminution d'un ordre de grandeur dans la période suivante. Il a été montré en [9] que l'irradiation γ externe est le facteur déterminant pour l'évolution temporelle du taux de dose corporelle ; c'est également vrai chez les animaux examinés pour les aberrations chromosomiques ou les pertes embryonnaires.

Les plus hautes valeurs de taux de dose totale ont été observées l'année de l'accident, suivies d'une diminution approximativement exponentielle au cours des 10 prochaines années (respectivement, $r_2=0.95$, $P < 0.05$ et $r_2=0.91$, $P < 0.05$ pour les sites 3 et 4, de la figure. 3b). Le facteur de réduction depuis l'accident était d'environ 15, correspondant à une demi-vie de 2,5 à 3 ans. Ces données montrent qu'après le premier impact de l'année de l'accident, chaque génération d'animaux a été exposée à un taux de dose corporelle de rayonnements ionisants inférieur au précédent.

Les doses corporelles moyennes absorbées dans les cohortes d'animaux examinés ont aussi été maximales au cours de l'année de dépôt des radionucléides. La plus haute valeur individuelle, déterminée dans la première et la deuxième génération post-accidentelle d'animaux était de 73 mGy pour le site 4. À la fin de la période de contrôle, les doses moyennes corporelles étaient d'environ 0,3, 0,7, 12 et 25 mGy pour les sites 2, 3, 4 et 5, respectivement [9].

À un moment donné de la période d'observation, le taux de dose absorbée (Fig. 3) et les doses absorbées dans différents sites diffèrent de deux ordres de grandeur environ, ce qui représente un fort gradient dans le niveau d'exposition des animaux.

Évolution temporelle de la fréquence d'aberrations chromosomiques

L'évolution temporelle de la fréquence d'aberration chromosomique dans les animaux étudiés est présentée dans le Tableau 2. La fréquence des aberrations chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse du campagnol roussâtre habitant la Réserve de la Biosphère de Berezinsky, c'est-à-dire le site 2 de notre étude, a été enregistrée dans un premier temps trois à cinq ans avant l'accident [15] et peut être prise comme mesure de contrôle pré-accidentel (historique) de nos données. Les données de ce contrôle pré-accidentel sont semblables à celles observées sur le site 1 (région de Minsk), le moins contaminé de la période 1986-1988.

Avant l'accident, seules des aberrations de type chromatidique ont été observées, et les cellules ne contenaient jamais d'aberrations multiples. En revanche, dans la période post-accidentelle, les anomalies chromosomiques se composaient d'aberrations à la fois chromatidiques et chromosomiques, contenant des fragments isolés et appariés dans la majorité des cas, mais aussi de rares translocations Robertsoniennes (fusion de chromosomes acrocentriques au niveau des centromères).

Chez les animaux habitant les sites contaminés, les fréquences des aberrations chromosomiques et des cellules aberrantes sont significativement supérieures ($P < 0.01$, test Khi-carré) à la fréquence pré-accidentelle, et ont augmenté de façon dose-dépendante, par un facteur de 3 à 7 sur les sites 2, 3 et 4, et d'environ 15 sur le site 5. Également l'analyse par corrélation de Pearson des fréquences d'aberrations totales et de celles des translocations Robertsoniennes dans des sites 2, 3 et 4 en 1996 (Fig. 4a, b) laisse entrevoir une relation entre les fréquences moyennes d'aberrations et les doses corporelles au moment de la capture.

La fréquence accrue des aberrations chromosomiques observées chez les animaux habitant les zones contaminées semble rester relativement constante au cours des années de l'étude (Tableau 2). Les données du tableau 2 présentent le niveau des aberrations chromosomiques de divers animaux par âge, sexe et maturité. Ces animaux ont été pris au hasard dans les populations étudiées. En règle générale, la moyenne d'âge des animaux dans chaque groupe n'était pas différente de la moyenne d'âge habituelle de 3-4 mois environ à la saison de la capture.

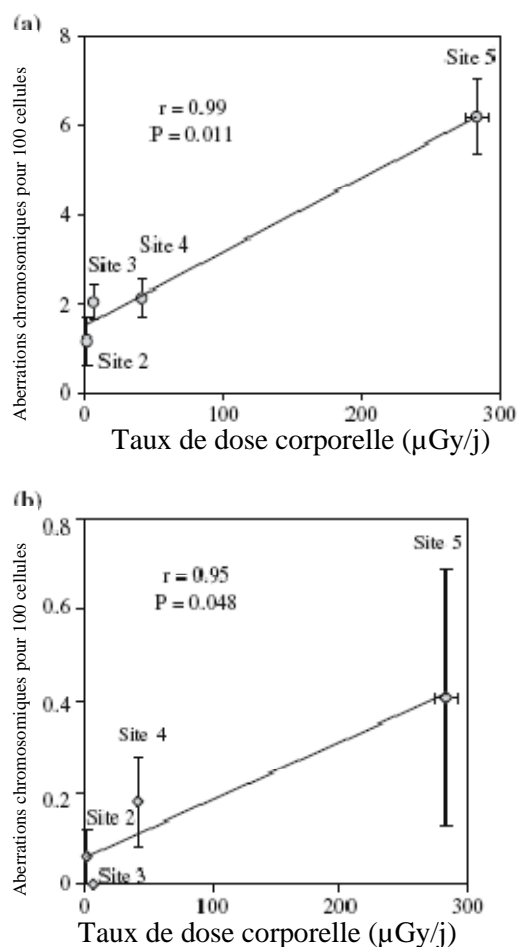


Fig. 4 Corrélation entre les valeurs de fréquence moyenne de tous les types d'aberrations chromosomiques (a) et de translocations Robertsoniennes b) avec les valeurs moyennes de taux de dose corporelle absorbée chez les populations de campagnol roussâtre habitant les sites 2-5, dix ans après l'accident. Les écarts-types des valeurs moyennes sont indiqués par les barres verticales.

Il y a eu une seule exception, sur le site 4, dix ans après l'accident, lorsque, par hasard, 10 des 14 animaux arbitrairement sélectionnés pour l'analyse cytogénétique se sont trouvés être âgés d'un an ou plus, alors que, dans les groupes plus nombreux de spécimens capturés sur ce site pour des études dosimétriques [9], on n'observait aucun changement décelable dans la répartition par âge. Afin d'exclure toute influence possible des variations de la répartition par âge sur les fréquences observées des aberrations chromosomiques, l'analyse de l'évolution temporelle de la fréquence d'aberrations chromosomiques a été limitée à des animaux matures âgés de 2 à 4 mois, dont les valeurs moyennes et le développement de l'âge sur la période de cette étude est montré sur la Fig. 5a. Le modèle temporel de la fréquence d'aberrations chromosomiques parmi les animaux âgés de 2 à 4 mois (Fig. 5b) était presque identique au modèle observé chez tous les animaux (Tableau 2). Comme il ressort de la Fig. 5, les fréquences d'aberrations chromosomiques observées parmi les campagnols roussâtres âgés de 2 à 4 mois restent pratiquement constantes au fil du temps, en dépit de la

diminution approximativement exponentielle du taux de dose corporelle.

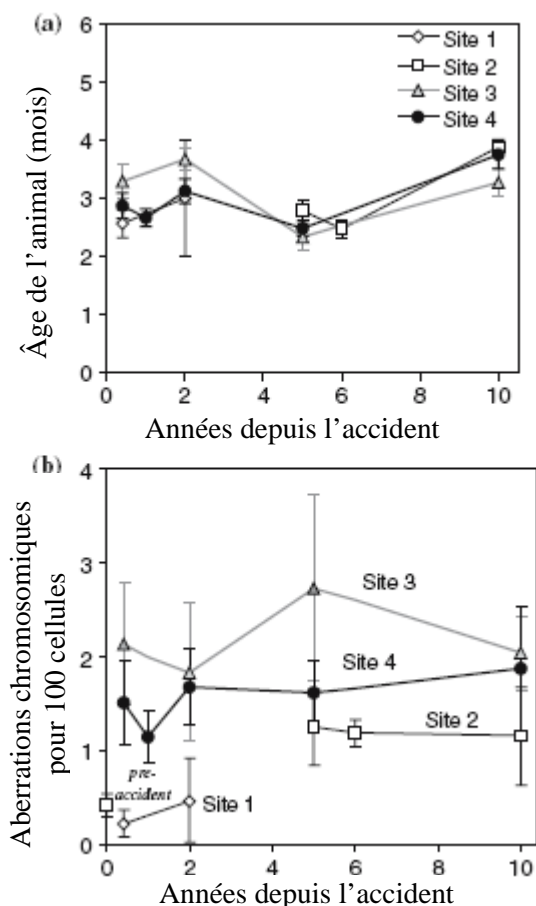


Fig. 5 Évolution temporelle de l'âge des animaux (a) et fréquence d'aberrations chromosomiques (b) dans une sous-cohorte de campagnols roussâtres adultes, âgés de 2-4 mois, sur quatre sites. Les données moyennes et les écarts-types sont affichés. Données pré-accidentelles d'après [15].

Ceci suggère que l'induction d'aberrations ne dépend pas seulement du niveau réel d'irradiation. Pour tester ceci, les fréquences d'aberrations ont été examinées sur la progéniture des campagnols capturés en 1988 sur les sites 3 et 4, qui est née et a grandi dans le laboratoire, et a été nourrie avec de la nourriture non contaminée. La fréquence d'aberrations chromosomiques observée sur la progéniture animale ne présentait aucune différence significative par rapport à celle observée chez les animaux des mêmes sites qui avaient grandi dans l'environnement contaminé, et à la fréquence d'aberrations de leurs mères (Fig. 6).

Mortalité Embryonnaire

Des études sur les pertes d'embryons chez les populations suivies ont été entreprises deux ans après l'accident. Aucune femelle enceinte n'ayant été capturée sur les sites 1 et 5 après l'étape de l'implantation embryonnaire, l'analyse sur la mortalité embryonnaire a été limitée aux sites 2, 3 et 4. La Figure 7a montre que l'âge des femelles enceintes au cours de la période de

surveillance n'augmente pas, ce qui aurait pu affecter les valeurs de létalité embryonnaire. L'âge moyen des femelles enceintes a plutôt eu tendance à diminuer pendant la période de surveillance. Les fréquences de pertes embryonnaires de la population habitant la Réserve de la Biosphère de Berezinsky trois à cinq ans avant l'accident [16] ont été utilisées comme contrôles pré-accidentels (Tableau 3, Fig. 7b). Une comparaison des données pré- et post-accidentelles montre que, parmi les populations du site 2 modérément contaminé et des sites 3 et 4 plus fortement contaminés, les mortalités embryonnaires pré- et post-implantatoires sont restées au niveau des fréquences de mortalité pré-accidentelle pendant les premières années d'observation. Après cinq à dix ans, toutefois, une tendance de la létalité embryonnaire a été constatée en hausse dans toutes les populations étudiées, atteignant une augmentation statistiquement significative dans les échantillons provenant des sites 3 et 4 après dix ans (par un facteur de 2 à 5 en comparaison avec les données pré-accidentelles).

Discussion

Dans cette étude, des petits mammifères vivant en liberté, le campagnol roussâtre, ont été utilisés comme organismes indicateurs pour l'enregistrement des effets environnementaux. Les populations étudiées vivaient à des distances différentes de la centrale nucléaire de Tchernobyl. Les enquêtes ont été entreprises cinq mois après l'accident, à partir des première et deuxième générations d'animaux post-accidentelles qui ont été irradiées à des doses inférieures d'un ordre de grandeur à celles d'autres animaux pendant la période aiguë suivant l'accident. Le sujet particulier de cette étude était de comparer l'évolution temporelle du dommage biologique chez ces animaux, dont la représentation recouvre jusqu'à 22 générations sur une période de dix ans après la catastrophe de Tchernobyl, avec l'évolution temporelle de l'irradiation subie par ces animaux. Les principaux résultats de cette étude sont : a) une augmentation dose-dépendante des fréquences d'aberrations chromosomiques et de pertes embryonnaires chez les animaux vivant dans des zones contaminées, par comparaison avec les contrôles historiques et les animaux vivant dans une zone présentant le plus bas niveau de contamination ; b) le fait que les fréquences d'aberrations chromosomiques soient restées à des niveaux élevés (Fig. 5) et que la fréquence des pertes embryonnaires aient même augmenté (Fig. 7) plus de dix ans après l'accident, malgré une baisse pratiquement exponentielle des taux de dose corporelle absorbée constatés chez ces animaux (Fig. 3).

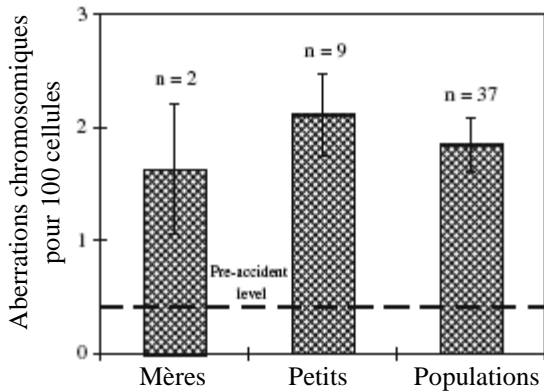


Fig. 6 Fréquences d'aberrations chromosomiques chez les campagnols roussâtres femelles capturées en 1988 sur les sites 3 et 4, et leur progéniture, née et élevée dans des conditions de laboratoire pendant environ 1,5 mois avant analyse. Les données sont comparées aux populations de campagnol roussâtre vivant à la même période sur les sites 3 et 4. Moyennes, écarts-types des moyennes et nombre d'animaux analysés sont affichés.

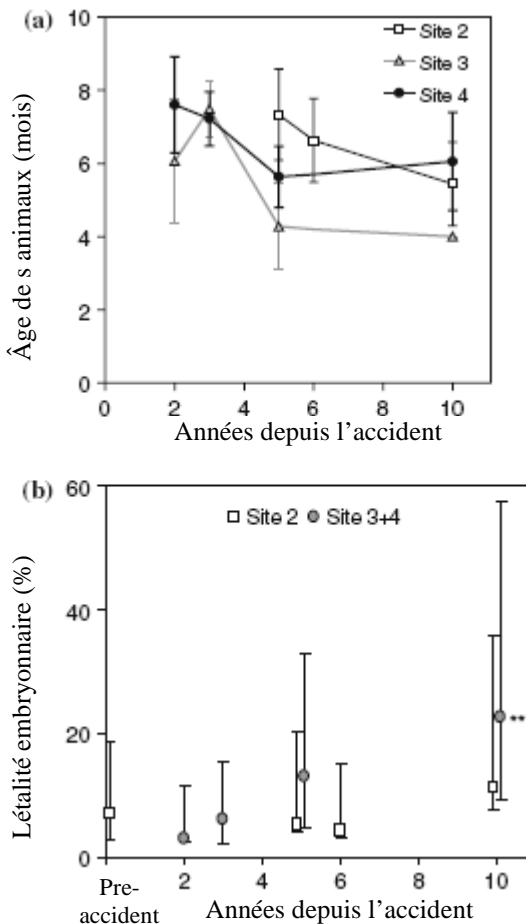


Fig. 7 (a) Évolution temporelle de l'âge des campagnols roussâtres enceintes analysées pour les pertes embryonnaires. Moyennes et écarts-types des moyennes sont affichés. **(b)** évolution temporelle de la létalité embryonnaire chez les animaux du site 2 et des sites 3 et 4 (rassemblés). Moyennes et seuils de confiance (loi binomiale) de 95% sont indiqués. Données pré-accidentelles d'après [16]

Les groupes de contrôle historiques soulèvent le problème de ne pas être directement comparables aux échantillons de l'étude. Dans l'étude présente, les fréquences d'aberrations chromosomiques observées en 1986 et 1988 chez les animaux vivant sur le site 1 pratiquement non contaminé peuvent être utilisées comme contrôles : elles étaient similaires à celles établies dans le contrôle historique (Tableau 2 ; Fig. 3). Ainsi nous pouvons exclure que les augmentations dans la fréquence d'aberrations chromosomiques vues dans les zones contaminées sont dues à une irradiation plus élevée. Malheureusement, nous n'avons pas de données recueillies sur le site 1 durant la période août-septembre des années 1991 et 1996, mais le fait que toutes les recherches sur les sites contaminés ont été effectuées par la même équipe garantit que les méthodes d'enquête n'ont pas changé pendant ces années. En conséquence, et en conformité avec les taux de dose-dépendance sans équivoque présentés sur les Fig. 4, 5 et 7, nous proposons une étiologie radiogénique des effets biologiques observés.

Diminution constante du taux de dose corporelle au cours de la période de recherche 1986-1996

Sur tous les sites étudiés, une baisse d'un ordre de grandeur a été constatée concernant les taux de dose corporelle absorbée pendant dix ans, qui est attribuable à la disparition progressive des retombées radioactives du biote [9]. Plus précisément, nous montrons que le taux de dose corporelle a diminué selon une fonction presque exponentielle avec une demi-vie de 2,5 à 3 ans (Fig. 3b, d). Comme le dommage biologique observé n'a pas diminué chez les mêmes animaux au cours de la période étudiée, il est important d'exclure que les niveaux d'irradiation des dernières années de l'étude, dus aux radionucléides transuraniens émetteurs α à durée de vie longue et/ou à l'augmentation des concentrations en ^{90}Sr dans les populations étudiées, aient été sous-estimés. Nos analyses de concentration des radionucléides chez les animaux ont montré que, dix ans après l'accident, la contribution des éléments transuraniens et du ^{90}Sr au taux de dose corporelle dans les spécimens de campagnol roussâtre étudiés n'excédait pas 3 et 8 %, respectivement [9]. Cette contribution a été estimée inférieure de deux ordres de grandeur au taux de dose corporelle pendant l'année de l'accident [9]. La contribution du ^{90}Sr dans les doses locales de tissus osseux au cours des dernières années de l'étude était d'environ 2 à 10 fois inférieure à celle de l'irradiation γ externe. Le taux de dose absorbée dans la moelle osseuse rouge due au rayonnement β du ^{90}Sr , approximativement égal aux taux moyens de dose absorbée par les tissus osseux, a été du même ordre de grandeur minimale, comparable à celui des rayonnements β des $^{137-134}\text{Cs}$ au cours des dernières années et d'un ordre de grandeur inférieur aux radiations β des $^{137-134}\text{Cs}$ au début de la période post-accidentelle. Nous concluons que les doses pour les derniers points n'ont pas été sous-estimées dans notre démarche.

Dose dépendance des effets observés

Les données présentées dans les Tableaux 2 et 3, ainsi que dans les Fig. 5 et 7, s'opposent à une forte dépendance des effets biologiques observés de l'irradiation. Cela se traduit manifestement par des niveaux d'aberrations relativement bas et des pertes embryonnaires sur les sites 1 et 2 moins contaminés, moyennement élevés sur les sites 3 et 4, et relativement élevés sur le site 5 le plus contaminé. En outre, il y a une corrélation linéaire statistiquement significative entre les valeurs moyennes de la fréquence d'aberrations chromosomiques observée dix ans après l'accident et les taux moyens de dose corporelle répandus chez les animaux étudiés au même moment (Fig. 4). De même, on a pu démontrer la fréquence moyenne de *micronuclei* associée à l'exposition à de faibles doses (de 4,22 à 39,4 $\mu\text{Gy}/\text{jour}$) chez les populations de campagnols roussâtres étudiées deux ans après l'accident, dans quatre régions suédoises contaminées par les retombées de Tchernobyl atteignant des niveaux de 1,8, 22, 90 et 145 kBq/m^2 [17], à savoir des niveaux similaires à ceux de nos sites d'étude 1 et 3 (Tableau 1). Les niveaux moyens d'aberrations chromosomiques ont également augmenté de façon dose-dépendante chez les souris de laboratoire, qui ont été exposées pendant quatre mois sur nos lieux d'étude à des taux de dose corporelle d'irradiation interne et externe de 3 à 145 $\mu\text{Gy}/\text{jour}$ [8], à savoir à des niveaux d'irradiation proches de ceux observés chez les animaux en liberté.

La dose-dépendance du dommage biologique est une condition fondamentale pour conclure au rôle causal de l'irradiation concernant les effets observés. Cela comprend la possibilité de modes d'action directes aussi bien qu'indirectes, en d'autres termes, l'induction des effets observés dans une génération donnée, par irradiation de la même génération ou celle de générations précédentes. Ainsi, une corrélation linéaire observée dix ans après l'accident entre les valeurs moyennes de fréquences d'aberrations chromosomiques et les taux de dose dans les dernières générations d'animaux, peut également traduire une corrélation linéaire entre les fréquences d'aberrations et les taux de dose de toutes les années précédentes, parce que les taux de dose sur les différents sites sont restés en proportion constante les uns par rapport aux autres, alors qu'ils ont diminué de manière exponentielle au cours de la période d'étude (Fig. 4). D'autre part, les points de dispersion dans la fréquence individuelle d'aberrations chromosomiques *versus* le niveau individuel de taux de dose corporelle absorbée ou la dose corporelle absorbée peuvent s'opposer à une dose-dépendance de l'effet biologique, même sur l'irradiation de l'animal (Fig. 2 et données non affichées). Une corrélation analogue a été observée entre les fréquences individuelles des *micronuclei* et les expositions individuelles aux rayonnements dans la même population d'animaux [6]. Il faudrait étudier ces relations de dose-effet à l'avenir.

Persistance à long terme des effets biologiques et mécanisme possible de leur transmission transgénérationnelle

Nos données (Tableaux 2 et 3 ; fig. 5 et 7) suggèrent que les effets biologiques chez le campagnol roussâtre vivant dans les régions contaminées par la catastrophe de Tchernobyl ont persisté à un niveau stable (aberrations chromosomiques) ou même augmenté (pertes embryonnaires) pendant dix ans, ce qui correspond à 22 générations d'animaux au moins, bien que les taux de dose aient sensiblement baissé au cours de cette période. Cette observation vient fondamentalement contredire l'hypothèse selon laquelle le préjudice biologique disparaîtrait progressivement, en fonction directe de la réduction exponentielle du taux de dose corporelle. Ainsi, les effets biologiques ne peuvent être expliqués par la seule irradiation subie par chaque animal.

Nos observations imposent plutôt une interprétation différente, à savoir que les effets biologiques reflètent une transmission transgénérationnelle de dommages radiologiques qui s'est opérée dès les premières générations, en particulier celles vivant au moment de l'accident et au début de la période post-accidentelle, et qu'elle a suivi une accumulation au cours de l'exposition chronique des générations suivantes. Le fait que la progéniture de femelles capturées, irradiée *in utero* dans des zones contaminées, mais née au laboratoire et nourrie avec des aliments non contaminés, ne présente pas une réduction significative des fréquences d'aberrations, par comparaison avec les animaux nés et élevés dans le milieu contaminé (Fig 6), corrobore l'hypothèse selon laquelle un mécanisme de transmission transgénérationnelle des dommages radiologiques s'est mis en place. L'apparition de dommages radiologiques dans les cellules et les tissus qui n'ont pas été directement exposés aux rayonnements n'est pas sans précédent. Par exemple, l'instabilité génomique est un effet d'irradiation à long-terme qui a été étudié intensivement. Le terme "instabilité génomique" fait référence à la production *de novo* de réponses différées du génome dans la descendance des cellules exposées en culture ou chez un animal irradié [18-22]. Il a été démontré que l'instabilité génomique, y compris l'instabilité chromosomique dans les cellules souches hémapoïétiques *in vitro* et *in vivo*, est activée à des doses relativement faibles par des rayonnements ionisants au TEL (Transfert d'Énergie Linéaire) élevé et bas [21-25], et révèle une augmentation de la dose-dépendance à des doses plus élevées [24]. La dose-dépendance a été également observée pour l'instabilité chromosomique dans les fœtus de souris irradiés au stade de zygotes [26]. D'autres auteurs n'ont toutefois pas trouvé de relation de dose pour l'instabilité génomique au-delà d'un large spectre de doses de radiation [27-29].

L'expression de l'instabilité génomique a été décrite persister aux plus fortes doses jusqu'aux 70-80èmes générations d'une population, et même davantage [29, 30]. Dans la descendance des cellules souches

hémopoïétiques à long terme de la souris, l'instabilité chromosomique a été observée plus de 24 mois après irradiation cellulaire et transplantation [22]. Il est clairement établi que le contexte génétique ou génotype peut influencer l'instabilité radio-induite [25]. Les mécanismes de l'instabilité génomique sont largement inconnus. Il se peut qu'une partie d'entre eux au moins repose sur une transmission épigénétique de l'information. Par exemple, il a été suggéré que l'instabilité génomique reflétait une modification des voies de transduction et des changements dans le microenvironnement de l'ADN [31, 32]. Puisque la méthylation de l'ADN est liée à la condensation du chromosome [33], les fragments de chromosome et de chromatide ainsi que les translocations Robertsoniennes peuvent être expliqués par la fragilité radio-induite croissante de la chromatine pendant la condensation du chromosome [34]. On a suggéré que ces types d'aberrations chromosomiques marquaient l'instabilité génomique induite, bien que d'autres types d'aberrations chromosomiques puissent également se manifester [24, 26, 27, 30].

Toutefois, contrairement à des études où les effets à long terme ont été étudiés chez les mêmes animaux ayant été exposés aux radiations à un stade précoce de leur développement individuel, l'interprétation des effets observés dans notre étude doit traiter avec le dommage persistant sur plusieurs générations d'animaux.

Dans la littérature, le terme "transmission transgénérationnelle de dommages radiologiques" est surtout utilisé dans un sens descriptif, y compris génétique et épigénétique, et concernant aussi les mécanismes jusqu'à présent non caractérisés des dommages de transmission à la descendance [21, 35-42]. Les réponses radio-induites différées attribuables à l'instabilité génomique ont été révélées dans quelques premières générations animales après irradiation de cellules germinales mâles [43] ou de zygotes [37]. Des tumeurs héréditaires et des anomalies ont été observées dans la descendance des souris exposées [35], de même que des désordres physiologiques ou des troubles du développement dans la descendance de parents irradiés, qui a abouti à la mort embryonnaire et post-natale, aux perturbations de la fécondité, aux anomalies ou malformations congénitales [44]. L'instabilité génomique dans la descendance de la première génération (F1) de souris ou de rats irradiés recouvre divers points limites tels que les aberrations chromosomiques, les *micronuclei*, les mutations ponctuelles et les réversions dans les cellules somatiques (examiné en [39]) ainsi que la résorption embryonnaire au début (pré-implantatoire) et à la fin (post-implantatoire) de la résorption embryonnaire [37], la réduction du taux de fécondation [45], l'augmentation du nombre de femelles stériles [37] et la réduction de la capacité proliférative des cellules embryonnaires F1 et F2 [36] et des cellules hépatiques F1 [38]. L'instabilité transgénérationnelle du germe a également été démontrée dans la descendance de souris irradiées (examiné en [39]), ainsi que chez les enfants

nés de parents irradiés [46] et les couvées d'hirondelles dans les granges à proximité (25-50 km) de la centrale nucléaire de Tchernobyl [47]. En outre, la transmission transgénérationnelle des effets sur le génome et sur le développement a été rapportée après l'exposition parentale à certains produits chimiques [par ex., 35, 41]. En conclusion, nous suggérons que, dans les populations de campagnol roussâtre étudiées, l'irradiation des générations parentales a conduit à une accumulation de mutations germinales et/ou de changements épigénétiques, qui a entraîné, au niveau des cellules somatiques, des aberrations chromosomiques en augmentation constante, ainsi que des pertes embryonnaires croissantes dans les générations suivantes. Concernant l'accumulation continue de dommages transgénérationnellement transmis pendant l'exposition chronique aux radiations des générations parentales, nous parlerons d'*accumulation transgénérationnelle* de dommages biologiques transmis. Le présent rapport est le premier à avoir étudié l'évolution temporelle du dommage biologique sur une série de générations de mammifères chroniquement exposés aux rayonnements ionisants. Jusqu'à présent, le développement à long terme du dommage radiologique transgénérationnellement transmis n'avait été étudié que dans un nombre limité de générations consécutives d'animaux, généralement dans les deux premières générations suivant l'irradiation des parents [21, 31, 35-39, 43, 46]. Des fréquences d'aberrations chromosomiques ont également été observées en augmentation dans les cellules de la moelle osseuse chez le campagnol rouge après 25-30 générations [3] et chez le campagnol commun après 75-80 générations [48], chroniquement irradiés dans les régions à forte contamination radioactive dans l'Oural et dans les zones frontalières. Cette dernière observation a été expliquée par l'instabilité chromosomique héréditaire [48], mais il n'existe pas de données sur l'évolution temporelle quantitative de ces effets. La question est de savoir si les niveaux d'aberrations chromosomiques et la létalité embryonnaire, qui ont été atteints après 22 générations animales dans notre étude de 1996, seront maintenus en permanence, ou s'ils seront suivis d'une phase de réduction dans les générations à venir. Notre étude indique qu'une nouvelle réduction de l'exposition chronique aux rayonnements est à prévoir, et qu'il existe un mécanisme de sélection efficace, la létalité embryonnaire dose-dépendante accrue dans les populations animales des zones contaminées par la radioactivité. De plus amples recherches seront nécessaires pour clarifier cette question d'intérêt génétique et écologique.

Remerciements : Ce travail a été réalisé dans le cadre du Programme d'État de la République du Bélarus pour réduire et surmonter les conséquences de la catastrophe de Tchernobyl (1986-2002). Les auteurs souhaitent remercier les administrations de la Zone d'Exclusion de Tchernobyl et de la Réserve de la Biosphère de Berezinsky pour leur en avoir autorisé l'accès. Nous

sommes redevables auprès de l'ancienne et de l'actuelle équipe du Laboratoire d'Antimutagenèse, de l'Institut de Génétique et de Cytologie, du NAS du Bélarus, pour leur aide enthousiaste sur le terrain et en laboratoire. Nous sommes reconnaissants au Dr M. Malko, à l'Institut des Problèmes Physique et Chimique liés à l'Irradiation, au NAS du Bélarus, pour les recommandations dans l'évaluation des taux de dose. Les auteurs remercient spécialement le Prof. D. Harder, Université de Göttingen, pour la lecture critique du manuscrit et les discussions enrichissantes qui ont permis d'améliorer ce travail.

Traduit par François Gillard (2008), avec l'aimable autorisation de l'auteure.

Références

- De Cort M, Dubois G, Fridman ShD, Germenchuk MG, Izrael YuA, Janssens A, Jones AR, Kelly GN, Kvasnikova EV, Matveenko II, Nazarov IM, Pokumeiko YuM, Sitak VA, Stukin ED, Tabachny LYa, Tsaturov YuS, Avdyushin SI (1998) Atlas of caesium deposition in Europe after the Chernobyl accident. OYce for OYcial Publications of the European Communities, Luxembourg
- Sankaranarayanan K, Chakraborty R (2000) Ionizing radiation and genetic risks XI. The doubling dose estimates from the mid-1950s to the present and the conceptual change to use of human data on spontaneous mutation rates and mouse data on induced mutation rates for doubling dose calculations. *Mutat Res* 453:107–27
- Shevchenko VA, Pomerantseva MD (1985) Genetic consequences of ionizing irradiation (in Russian). Nauka, Moscow
- UNSCEAR (2001) Hereditary effects of radiation. Report of the United Nations Scientific Committee on the effects of atomic radiation, United Nations. New York
- Ryabokon NI, Goncharova RI (2003) Natural populations of murine rodents as model objects in studying the transgenerational effects of chronic irradiation. In: Cebulska-Wasilewska A (ed) Human monitoring for genetic effects, NATO Science Series, Series I. Life and behavioral sciences 351, IOS Press, pp 302–308
- Goncharova RI, Ryabokon NI, Smolich II (1999) Biological effects of low-dose chronic irradiation in somatic cells of small mammals. In: Goossens LHJ (ed) Risk analysis: facing the new millennium. Proceedings of the 9th annual conference, Delft University Press, Rotterdam, pp 710–714
- Goncharova RI, Ryabokon NI (1995) Dynamics of cytogenetic injuries in natural populations of bank vole in the Republic of Belarus. *Radiat Prot Dosimetry* 62:37–40
- Goncharova R, Ryabokon N (1998) Results of long-term genetic monitoring of animal populations chronically irradiated in the radiocontaminated areas. In: Imanaka T (ed) Research activities about the radiological consequences of the Chernobyl NPS accident and social activities to assist the sufferers by the accident. Kyoto University, pp 194–202
- Ryabokon NI, Smolich II, Kudryashov VP, Goncharova RI (2005) Long-term development of the radionuclide exposure of murine rodent populations in Belarus after the Chernobyl accident. *Radiat Environ Biophys* 44:169–181
- Bashenina NV (ed) Bank vole (1981) (in Russian) Soviet Committee for the UNESCO Programme “Man and Biosphere”, Nauka, Moscow
- Rozhdestvenskaya A (1994) Peculiarities of reproduction of bank voles in the radiocontaminated environment. *Pol Ecol Stud* 20:509–515
- Adler I-D (1984) Cytogenetic tests in mammals. In: Venitt S, Parry JM (eds) *Mutagenicity testing: a practical approach*. IRL Press, Oxford, pp 275–306
- Savage JR (1975) Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J Med Genet* 12:103–122
- Anderson D (1984) The dominant lethal test in rodents. In: Venitt S, Parry JM (eds) *Mutagenicity testing: a practical approach*. IRL Press, Oxford, pp 307–335
- Yeliseeva KG, Kraskovsky GV, Mironova GI, Podliskikh GA, Krischanovich UU, Kukhlyankova SS, Myal'nou SB, Razhdestvenskaya AS (1985) Study on genetic changes in bone marrow cells of bank vole (*Clethrionomys glareolus*) living in regions with different level of highway contamination (in Belarusan). *Vesti AN BSSR, Biol Ser* 1:75–79
- Razhdestvenskaya AS (1984) Distinctions of age structure, propagation and mortality of two European bank vole populations (in Belarusan). *Vesti AN BSSR, Biol Ser* 5:103–106
- Cristaldi M, Ieradi LA, Mascanzoni D, Mattei T (1991) Environmental impact of the Chernobyl accident: mutagenesis in bank voles from Sweden. *Int J Radiat Biol* 59:31–40
- Sinclair WK (1964) X ray induced heritable damage (small colony formation) in cultured mammalian cells. *Radiat Res* 21:584–611
- Kennedy AR, Fox M., Murphy G, Little JB (1980) Relationship between X-ray exposure and malignant transformation in C3H 10T1/2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:7262–7266
- Pampfer S, StreVer C (1989) Increased chromosome aberration levels in cells from mouse fetuses after zygote X-irradiation. *Int J Radiat Biol* 55:85–92
- Limoli CL, Ponnaiya B, Corcoran JJ, Giedzinski E, Kaplan MI, Hartman A, Morgan WF (2000) Genomic instability induced by high and low LET ionizing radiation. *Adv Space Res* 25:2107–2117
- Watson GE, Pocock DA, Papworth D, Lorimore SA, Wright EG (2001) In vivo chromosomal instability and transmissible aberrations in the progeny of haemopoietic stem cells induced by high- and low-LET radiations. *Int J Radiat Biol* 77:409–417
- Smith LE, Nagar S, Kim GJ, Morgan WF (2003) Radiation-induced genomic instability: radiation quality and dose response. *Health Phys* 1:23–28
- Devi PU, Hossain M. (2000) Induction of chromosomal instability in mouse hemopoietic cells by fetal irradiation. *Mutat Res* 456:33–37
- Kadhim MF (2003) Role of genetic background in induced instability. *Oncogene* 22:6994–6999
- StreVer C (2003) Bystander effects, adaptive response and genomic instability induced by prenatal irradiation. *Mutat Res* 568:79–87
- Ponnaiya B, Jenkins-Baker G, Bigelow A, Marino S, Geard CR (2004) Detection of chromosomal instability in alpha-irradiated and bystander human fibroblasts. *Mutat Res* 568:41–48
- Little JB, Nagasawa H, Pfenning T, Vetrovs H (1997) Radiation-induced genomic instability: delayed mutagenic and cytogenetic effects of X rays and alpha particles. *Radiat Res* 148:299–307
- Mothersill C, Kadhim MA, O'Reilly S, Papworth D, Marsden SJ, Seymour CB, Wright EG (2000) Dose- and time-response relationships for lethal mutations and chromosomal instability induced by ionizing radiation in an immortalized human keratinocyte cell line. *Int J Radiat Biol* 76:799–806
- Grosovsky AJ, Parks KK, Giver CR, Nelson S (1996) Clonal analysis of delayed karyotypic abnormalities and gene mutations in radiation-induced genetic instability. *Mol Cell Biol* 16:6252–6262
- Bridges BA (2001) Radiation and germline mutation at repeat sequences: are we in the middle of a paradigm shift? *Radiat Res* 156:631–641

32. Barcellos-HoV MH, Brooks A (2001) Extracellular signaling through microenvironment: a hypothesis relating carcinogenesis, bystander effects and genomic instability. *Radiat Res* 156:618–627
33. Geiman TM, Sankpal UT, Robertson AK, Chen Y, Mazumdar M, Heale JT, Schmiesing JA, Kim W, Yokomori K, Zhao Y, Robertson KD (2004) Isolation and characterization of a novel DNA methyltransferase complex linking DNMT3B with components of the mitotic chromosome condensation machinery. *Nucleic Acids Res* 32:2716–2729
34. Greinert R, Detzler E, Harder D (2000) The kinetics of postirradiation chromatin restitution as revealed by chromosome aberrations detected by premature chromosome condensation and fluorescence in situ hybridization. *Radiat Res* 154:87–93
35. Nomura T (1982) Parental exposure to X-ray and chemicals induces heritable tumours and anomalies in mice. *Nature* 256:575–577
36. Wiley LM, Baulch JE, Raabe OG, Straume T (1997) Impaired cell proliferation in mice that persists across at least two generations after paternal irradiation. *Radiat Res* 148:145–151
37. Pils S, Muller WU, StreVer C (1999) Lethal and teratogenic effects in two successive generations of the HLG mouse strain after radiation exposure of zygotes— association with genomic instability? *Mutat Res* 429:85–92
38. Kropacova K, Slovinska L, Misurova E (2002) Cytogenetic changes in the liver of progeny of irradiated male rats. *J Radiat Res (Tokyo)* 43:125–133
39. Dubrova YuE (2003) Radiation-induced transgenerational instability. *Oncogene* 22:7087–7093
40. Morgan WF (2003) Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res* 159:581–596
41. Nomura T, Nakajima H, Ryo H, Li LY, Fukudome Y, Adachi S, Gotoh H, Tanaka H (2004) Transgenerational transmission of radiation- and chemically induced tumors and congenital anomalies in mice: studies of their possible relationship to induced chromosomal and molecular changes. *Cytogen Genome Res* 104:252–260
42. StreVer C (2006) Transgenerational transmission of radiation damage: genome instability and congenital malformation (publication dedicated to Prof. Nomura, in print)
43. Niwa O, Kominami R (2001) Untargeted mutation of the maternally derived mouse hypervariable minisatellite allele in F₁ mice born to irradiated spermatozoa. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:1705–1710
44. Vorobtsova IE (1989) Increased cancer risk as a genetic effect of ionizing radiation. *IARC Sci Publ* 96:389–401
45. Burrueel VR, Raabe OG, Wiley LM (1997) In vitro fertilization rate of mouse oocytes with spermatozoa from the F₁ offspring of males irradiated with 1.0 Gy ¹³⁷Cs gamma-rays. *Mutat Res* 381:59–66
46. Dubrova YE, Grant G, Chumak AA, Stezhka VA, Karasian AN (2002) Elevated minisatellite mutation rate in post-Chernobyl families from Ukraine. *Am J Hum Genet* 71:801–809
47. Ellegren H, Lindgren G, Primmer CR, Moller AP (1997) Fitness loss and germline mutations in barn swallows breeding in Chernobyl. *Nature* 389:593–596
48. Gileva EA, Liubashevskij NM, Starichenko VI, Chibiriak MV, Romanov GN (1996) Hereditary chromosome instability in the common vole (*Microtus arvalis*) from the region of the Kyshtymnuclear accident—fact or hypothesis? *Genetica (in Russian)* 32:114–119