

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА. ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В НИЗКОФОНОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ БАКСАНСКОЙ НЕЙТРИННОЙ ОБСЕРВАТОРИИ ИЯИ РАН

М. П. Зарубин *, *О. А. Кулдошина* **, *Е. В. Кравченко* ***

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Изучение влияния пониженного радиационного фона на биологические системы является новой областью радиационной биологии, причем активность изучения проблемы адаптации к условиям низкого радиационного фона выросла в 2015–2019 гг., что связано с появлением новых экспериментальных методов. Геномная стабильность/изменчивость при продолжительной экспозиции в условиях низкого радиационного фона и положительное/отрицательное влияние отсутствия естественного радиационного фона на живые организмы являются наиболее обсуждаемыми вопросами. Однако данные, полученные разными научными коллективами, не позволяют создать универсальную модель, объясняющую наблюдаемые события. Обсуждаются накопленные к настоящему времени экспериментальные данные, требования к проведению работ в условиях низкого радиационного фона и перспективы проведения биологических экспериментов ОИЯИ совместно с БНО ИЯИ РАН в уникальных условиях низкофоновой лаборатории DULB-4900.

The study of the effects of low background radiation on biological systems is a new area of radiation biology, and the activity of studying the problem of adaptation to low radiation background conditions increased in 2015–2019, which is associated with the appearance of new experimental methods. Genomic stability/variability during prolonged exposure under low radiation background conditions and the positive/negative effects of the absence of natural radiation background on living organisms are the most discussed issues. However, the data obtained by different scientific teams do not allow obtaining a universal model explaining the observed events. In this paper, the experimental accumulated data, the requirements for work under conditions of low radiation background, and the prospects of

*E-mail: mzarubin@jinr.ru

**E-mail: o.kuldoshina@yandex.ru

***E-mail: elenakravchenko@jinr.ru

cooperative work between JINR and BNO INR RAS for carrying on biological experiments under unique conditions of the low-background laboratory DULB-4900 are considered.

PACS: 87.52.-g; 87.53.-j

ВВЕДЕНИЕ

Систематическое изучение влияния пониженного радиационного фона на биологические объекты различных уровней организации важно для понимания фундаментальных принципов вклада естественного радиационного фона в эволюцию, адаптацию, регуляцию биологических процессов, а также для расчета моделей возникновения рисков в областях радиационной защиты, медицины, космонавтики [1, 2]. Продолжающееся освоение человеком космоса требует понимания и моделирования адаптации живых организмов к наибольшему числу потенциально возможных сценариев, характеризующихся различными типами и количеством фонового излучения, магнитных полей, вкладов гравитации, атмосферного давления, температурных режимов. Важно отметить, что многие из этих параметров окружающей среды могут воспроизводиться в условиях специально оборудованных лабораторий [2].

Для формирования единой модели взаимодействия ионизирующего излучения и живых объектов требуется детальное изучение биологических эффектов в организмах, помещенных в условия радиационного фона меньше 10^{-3} Гр/год, т. е. меньше естественного радиационного фона в 2–10 раз. Исследования в области влияния пониженного радиационного фона на биологические объекты являются новой областью радиационной биологии, активно изучающейся в последнее время, что связано с увеличением запроса на межпредметные исследования в естественных науках, появлением новых возможностей для компьютерного моделирования, совершенствованием технологий анализа экспрессии всех генов с помощью метода RNA-seq и микрочипов, позволяющих описывать на молекулярном уровне организменные процессы. Важную роль в понимании происходящих процессов могут также сыграть механизмы эффекта свидетеля (bystander effect), каскада передачи сигнала между клетками, репарации ДНК и регуляции антиоксидантной системы [3].

Для получения воспроизводимых экспериментальных данных необходимо экранировать различные виды излучения земного и космического происхождения для создания условий пониженного радиационного фона, а также контролировать постоянство температуры, влажности, атмосферного давления, освещенности, газового состава, микробиологических и других параметров лаборатории между местами нахождения экспериментальной и контрольной групп организмов. Такие условия достижимы в низкофоновых лабораториях подземных нейтринных обсерваторий, изначально созданных для экспериментов по изучению физики частиц и астрофизики, где требуется значительное уменьшение плотности потока космических лучей. В настоящее время ис-

следования по изучению влияния низкого радиационного фона на эволюционные и адаптационные процессы в живых объектах ведутся в нескольких физических исследовательских центрах: LNGS (Национальной лаборатории Гран-Сассо, Италия), CNRS (Национальном центре научных исследований, Модан, Франция), WIPP (Центре по захоронению ядерных отходов, Нью-Мексико, США), SNOLAB (Нейтринной обсерватории в Садбери, Канада), ОИЯИ/БНО ИЯИ РАН (Баксанской нейтринной обсерватории Института ядерных исследований РАН, пос. Нейтрино, Россия).

Данная работа посвящена текущему состоянию дел в области биологии организмов в условиях пониженного радиационного фона и перспективам дальнейших исследований. В ней описаны принципы проведения экспериментов, представлены основные полученные данные и проанализированы существующие модели, объясняющие наблюдаемые эффекты. Приводятся описание низкофоновых лабораторий, проводивших биологические исследования, их экспериментальные возможности, особенности экранирования естественного радиационного фона. Работа по изучению данной области публикуется на русском языке впервые, в ней также описываются условия проведения таких исследований на территории России. Заявлены эксперименты, проводимые ОИЯИ совместно с БНО ИЯИ РАН в условиях низкофоновой лаборатории DULB-4900. Важно отметить, что возможности DULB-4900 по многим параметрам экранирования являются одними из лучших в мире, что также отражено в одном из разделов работы. Все это делает возможным расширение профиля исследований в низкофоновой лаборатории БНО и проведение на ее базе биологических экспериментов. В заключении обозначены вопросы, разрешение которых в будущем могло бы объяснить реакции, возникающие в живых организмах в условиях низкого радиационного фона.

ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА

Типичная схема проведения экспериментов в условиях подземных низкофоновых лабораторий глубокого залегания предполагает изучение двух групп идентичных модельных организмов, которые одновременно помещают в условия с пониженным радиационным фоном и контрольные условия с естественным радиационным фоном, где они находятся определенное время согласно целям эксперимента. Чаще всего это либо полный цикл развития в случае многоклеточных организмов, либо несколько десятков поколений в случае микроорганизмов. Далее биологические параметры исследуемых организмов сопоставляются и происходит поиск изменений между экспериментальной и контрольной группами (рис. 1). Стандартная схема может быть модифицирована добавлением дополнительных стрессовых условий во время или сразу

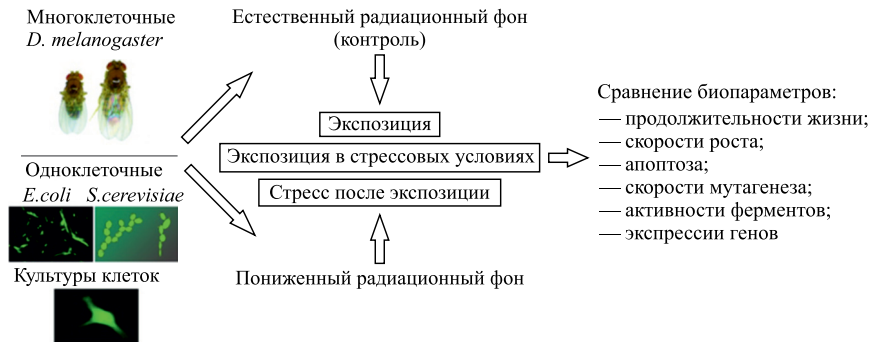


Рис. 1. Общая схема биологических экспериментов для оценки влияния пониженного радиационного фона на живые объекты

после основного эксперимента (воздействия ионизирующей радиации, окислительного стресса и др.).

Выбор изучаемого организма определяет набор биопараметров для сравнения и зависит от целей эксперимента и возможностей лаборатории, однако чаще всего разные авторы анализировали скорость роста клеток, количество и активность белков, участвующих в ответе на окислительный стресс, и частоту индукции мутаций.

В значительной части исследований по влиянию пониженного радиационного фона на биологические объекты в качестве модельных организмов использовались культуры клеток млекопитающих *TK6*, *V79*, *M10*, *L5178Y* и одноклеточные организмы *Paramecium tetraurelia*, *Synechococcus lividus*, *S. oneidensis*, *D. radiodurans*, *E. coli*, *S. cerevisiae*. Преимущества таких организмов — короткий жизненный цикл и быстрая смена поколений. Из экспериментальных сложностей стоит отметить то, что перечисленные организмы должны постоянно находиться в термостатируемых камерах, использование которых не всегда возможно в низкофоновых лабораториях, и требуют регулярного пересева и обновления питательной среды.

В качестве модельного объекта в рамках проекта REPAIR [4], осуществляемого канадской лабораторией в Садбери, по исследованию поведения биологических организмов в условиях пониженного радиационного фона был выбран сельдевидный сиг (*Coregonus clupeaformis*). Этот вид рыб обладает достаточно долгим циклом развития при пониженных температурах, что может способствовать лучшему проявлению эффектов адаптации [5], однако технические трудности возникают в связи с достаточной степенью экранирования некоторых компонентов естественного радиационного фона в течение длительного промежутка времени и сложностями в содержании. Возможно, с этим связано отсутствие к настоящему времени опубликованных экспериментальных данных по проекту REPAIR.

Исследования с участием млекопитающих в низкофоновых лабораториях также осложнены из-за особенностей их содержания и санитарных требований к физическим лабораториям. Поэтому в настоящее время оптимальным многоклеточным организмом для экспериментов в подземных низкофоновых лабораториях является классический генетический объект *D. melanogaster*, для которого не требуется никаких специальных условий, а замена питательной среды производится раз в две недели, что дает возможность проводить автономные эксперименты. Достаточно короткий цикл развития (12–14 сут), простота содержания, полностью отсекаемый геном и наличие тех же основных биологических процессов, что и у млекопитающих, делают *D. melanogaster* оптимальной моделью для оценки физиологических и генетических параметров во многих экспериментах [6–9], в том числе и в экспериментах, проводимых в условиях пониженного радиационного фона [10, 11]. Преимуществом *D. melanogaster* также является высокая фертильность, которая позволяет получать большое количество особей в каждом поколении, что необходимо для сложных генетических наблюдений, *in vivo* исследований воздействия радиации, изучения механизмов окислительного стресса и работы радиопротекторов. В последнее время первичная оценка нейротоксических побочных эффектов от радиотерапии проводится именно на *D. melanogaster* и подтверждается то, что данный организм хорошо подходит для анализа пострадиационных эффектов и выявления специфичных генов и белков, вовлеченных в молекулярные механизмы ответа на радиационное воздействие [12, 13]. Поскольку большинство биологических механизмов и метаболических путей, контролирующих развитие и выживание, сохранились в течение эволюции и являются в значительной степени универсальными [14], высока вероятность, что реакции *D. melanogaster* на понижение естественного радиационного фона могут послужить базой для создания общих гипотез.

В ходе биологических экспериментов в условиях пониженного радиационного фона разными группами исследователей регистрировались разные типы ответных реакций организмов. Условно их можно разделить на три основные группы эффектов: подавляющие, нейтральные и стимулирующие. Для разных видов организмов нахождение в условиях пониженного радиационного фона в большинстве случаев приводило к развитию подавляющих эффектов и развитию стрессовых реакций. Тем не менее для существенно меньшей группы экспериментов были зарегистрированы нейтральные и стимулирующие эффекты. Таким образом, наблюдается конфликт полученных данных, который не дает сформулировать единую модель ответа живых объектов на нахождение в условиях пониженного радиационного фона.

Одни из первых экспериментов по оценке влияния пониженного радиационного фона на живые организмы были проведены в условиях тоннеля в Пиренеях (Франция) [15] на *Paramecium tetraurelia* (инфузории туфельке)

и *Synechococcus lividus* (цианобактериях), которые продемонстрировали замедление скорости роста клеток, экранирование осуществлялось только массивом скалы. В 1995 г. Л. Сатта впервые провел эксперименты на культурах клеток в условиях низкофонового подземной Национальной лаборатории Гран-Сассо [16] (до конца 2000-х гг. это была единственная лаборатория, в которой изучалось влияние пониженного радиационного фона на живые организмы) и зарегистрировал подавляющие рост клеток эффекты.

Подавляющие эффекты приводят к снижению жизнеспособности, стрессовым реакциям и гибели биологических организмов как в ходе эксперимента, так и после возвращения в условия естественного радиационного фона. Подавляющие эффекты были зарегистрированы для культур клеток, бактерий, дрожжей, простейших и *D. melanogaster*.

Для культур клеток (V79) был проведен целый ряд экспериментов, длившихся до нескольких месяцев, в которых было показано, что клетки, выращенные в условиях пониженного радиационного фона, по сравнению с контрольными клетками имели изменения в регуляции антиоксидантной системы, что вызвало ухудшение в эффективности удаления активных форм кислорода и, как следствие, увеличение частоты возникновения мутаций [16–18]. Полученные результаты, по мнению авторов экспериментов, указывают на участие естественного радиационного фона в развитии защитных механизмов на клеточном уровне. Эксперименты на культуре клеток человека ТК6 [19, 20], находившихся в условиях пониженного радиационного фона, продемонстрировали относительное увеличение частоты образования микроядер после γ -облучения. Важно отметить, что это является индикатором неправильного восстановления поврежденного хроматина и неспособности клеток репарировать повреждения ДНК. Подобные исследования для клеток мышинной лимфомы *L5178Y* и *Paramecium tetraurelia* проводились в лаборатории Осакского университета [21] в специально оборудованной экранирующей камере с инкубатором, в ходе которых было показано, что у клеток замедлялась скорость роста и повышалась чувствительность к γ -излучению (табл. 1).

В дальнейшем в лаборатории Гран-Сассо проверялась гипотеза [22] о том, что уменьшение количества фонового ионизирующего излучения приводит к снижению потребности клетки в акцепторах активных форм кислорода [18]. Для этого в клетках V79 определяли содержание супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. Измерения проводились в течение 10 мес., и они не выявили для клеток, находившихся в условиях пониженного радиационного фона, изменений в количествах супероксиддисмутазы и каталазы, однако количество глутатионпероксидазы снизилось приблизительно в 3 раза. На основе этих данных авторы предполагают, что естественный радиационный фон может работать как триггерный механизм для развития защитного ответа [22].

Таблица 1. Основные экспериментальные данные, полученные для разных модельных организмов, находившихся в условиях пониженного радиационного фона

Лаборатория / объект исследования	Изменения в параметрах организмов, находившихся в условиях пониженного радиационного фона
CNRS / <i>Paramecium tetraurelia</i> , <i>Synechococcus lividus</i>	Наблюдалось замедление скорости роста клеток [15]
LNGS / <i>S. cerevisiae</i>	Наблюдалось повышение уровня рекомбинации после воздействия метилметансульфонатом [16]
LNGS / V79	Наблюдалось: усиление процессов апоптоза при неизменной экспрессии <i>p53</i> [17]; повышение способности удалять гидропероксиды и понижение уровня удаления супероксидных анионов; увеличение частоты мутаций в гене <i>hprt</i> и понижение устойчивости к γ -излучению, снижение количества глутатионпероксидазы [18]; снижение активности глутатионпероксидазы, увеличение частоты мутаций через 10 мес. Эти изменения сохранялись после возвращения на поверхность в течение нескольких месяцев [22]
LNGS / TK6	Время клеточного деления не менялось. Наблюдалось: относительное увеличение частоты образования микроядер после облучения, снижение активности супероксиддисмутазы, интенсификация выведения активных форм кислорода [19, 20]
Осацкий университет / M10, <i>Paramecium tetraurelia</i>	Наблюдалось замедление скорости роста, отмечена повышенная чувствительность к γ -излучению [21]
LNGS / <i>D. melanogaster</i>	В первом поколении наблюдалось увеличение продолжительности жизни и снижение фертильности для особей обоих полов, средняя двигательная активность не менялась. Отмечена позитивная селекция по выживаемости для гомозиготных особей с мутациями в гене <i>atm/tefu</i> [10, 11]
WIPP / <i>S. oneidensis</i> , <i>D. radiodurans</i>	Наблюдалось: замедление скорости роста <i>D. radiodurans</i> , изменения в белковом метаболизме, сохранение скорости роста у <i>S. oneidensis</i> [4]; увеличение экспрессии генов <i>katB</i> , <i>recA</i> , <i>SOA0154</i> для <i>S. oneidensis</i> и <i>dnaK</i> для <i>D. radiodurans</i> . После возвращения клеток к контрольным значениям фона происходило восстановление темпов роста, а стрессовый ответ прекращался. Для <i>S. oneidensis</i> отмечено снижение экспрессии генов, кодирующих рибосомальные белки и tPHK, и повышение экспрессии генов регуляторов мембранного транспорта [25]

D. radiodurans (один из самых радиорезистентных одноклеточных организмов) и *S. oneidensis* (бактерия в 143 раза менее радиорезистентная, чем *D. radiodurans* [23]) были исследованы в низкофоновой лаборатории Центра по захоронению ядерных отходов в Нью-Мексико. Оба вида показали изменения в белковом метаболизме и замедление скорости роста в течение 48 ч пребывания в условиях пониженного радиационного фона. Помимо этого на-

блюдалось усиление экспрессии генов *katB*, *recA*, *SOA0154* для *S. oneidensis* и *lexA*, *dnaK* для *D. radiodurans*, что обычно сигнализирует о клеточном ответе на увеличение концентрации активных форм кислорода, восстановления разрывов ДНК и потребности в рефолдинге поврежденных белков [24] (см. табл. 1). Скорость роста и остальные параметры приходили к значениям нормы после возвращения бактерий в условия естественного радиационного фона [24]. Таким образом, эти эксперименты показали, что филогенетически удаленные виды бактерий с разным уровнем радиочувствительности в той или иной степени реагируют на понижение уровня естественного радиационного фона, а их общую реакцию можно охарактеризовать как стресс-ответ. В 2018 г. был проведен транскриптомный анализ *S. oneidensis* [25], находившихся в условиях пониженного радиационного фона, который выявил наличие изменений в экспрессии для 4,6 % генов на ранней экспоненциальной стадии роста клеточной культуры и для 7,6 % — на более поздней стадии. Наибольшие изменения наблюдались при понижении экспрессии генов, кодирующих рибосомальные белки и тРНК, что отражает снижение активности трансляции белков. Другие значимые изменения наблюдались при увеличении экспрессии генов регуляторов мембранного транспорта, связанного с активизацией переноса субстратов через мембрану, а также при повышении и понижении экспрессии генов, связанных с дыханием, что может объясняться ответом на недостаточное количество кислорода в клетке. Таким образом, реакция *S. oneidensis* на нахождение в условиях низкофонового лабораторий напоминает реакцию, возникающую в ответ на различные виды стресса. Возможность потенциального влияния других абиотических факторов (кроме низкого уровня фонового излучения), непрерывно действующих в условиях помещений низкофоновых лабораторий, авторами описанных экспериментов не оценивалась.

Еще один итальянский проект FLYINGLOW [19] был создан для изучения большого количества биологических параметров *D. melanogaster*, претерпевающих изменения в условиях пониженного радиационного фона, в подземной лаборатории Гран-Сассо. В ходе проекта изучались продолжительность жизни, фертильность и подвижность между контрольной и экспериментальной линиями. Для обоих полов в условиях пониженного радиационного фона был отмечен рост медианной продолжительности жизни, сокращение фертильности на 30 % и отсутствие изменений в средней двигательной активности по сравнению с контрольной группой [10] (см. табл. 1). Интересно, что 10 сут пребывания сложного многоклеточного организма в условиях пониженного радиационного фона оказалось достаточно для получения статистически значимых отличий в продолжительности жизни и фертильности [11]. Следует отметить, что это один из немногих экспериментов, в которых был зарегистрирован стимулирующий эффект (увеличение продолжительности жизни). Помимо анализа процессов изменения продолжитель-

ности жизни у *D. melanogaster* проводился сравнительный анализ гетерохроматиновых доменов в мышечных волокнах между контрольными и экспериментальными группами [11]. Количество HP1 (Heterochromatin Protein 1) в ядрах клеток 40-дневных взрослых организмов, развивавшихся в условиях естественного радиационного фона, было значительно ниже по сравнению с молодыми взрослыми особями. В то же время аналогичный эксперимент в условиях пониженного радиационного фона не выявил различий между молодыми и взрослыми (40-дневными) особями по этому параметру [11], что, возможно, связано с лучшим состоянием мышечной ткани у *D. melanogaster*, находившихся в течение долгого периода времени в условиях подземной лаборатории.

Таким образом, подавляющие эффекты регистрируются во многих экспериментах и на разных модельных объектах. В связи с дискуссионным характером возникновения для большинства изучаемых живых организмов положительных эффектов, вызванных пониженным радиационным фоном, сомнения вызывает целесообразность заявленных ранее [26] планов по использованию условий глубоких подземных лабораторий с пониженным радиационным фоном для лечебно-профилактических целей.

Поскольку в ходе биологических экспериментов в условиях лабораторий пониженного радиационного фона регистрируются изменения в физиологии живых организмов, закономерно встает вопрос о наследуемости происходящих изменений. Лампе и др. [29] проведен эксперимент по контролируемой эволюции в условиях пониженного радиационного фона на 500 поколениях *E. coli*, который показал отсутствие каких-либо изменений в сравнительной жизнеспособности организмов последнего поколения, развивавшихся при стандартных и пониженных значениях радиационного фона. Вероятно, вклад естественного радиационного фона в уровень спонтанного мутагенеза является незначительным, по крайней мере, для 500 поколений *E. coli*. Результаты компьютерного моделирования верхней границы радиационного фона, создающего уровень мутаций, сопоставимый с естественным мутационным уровнем в *E. coli*, также показали, что эволюция, скорее, не зависит от уровня естественного радиационного фона [27]. Таким образом, влияние отсутствия естественного радиационного фона на эволюционные процессы у бактерий в диапазоне нескольких сотен поколений можно охарактеризовать как нейтральное.

МОДЕЛИ, ОБЪЯСНЯЮЩИЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМОВ НА ПОНИЖЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА

Естественное фоновое излучение — это постоянно действующий фактор окружающей среды, в состав которого входят космические, грунтовые и внутренние источники ионизирующего излучения (рис. 2). Живые организмы

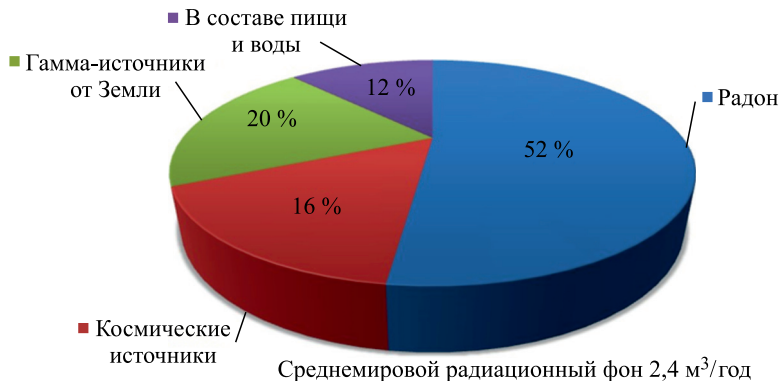


Рис. 2. Компоненты естественного радиационного фона [28]

существуют в течение миллиардов лет в условиях радиационного фона, и такой постоянный стимул может оказаться вовлеченным в стандартные биохимические и физиологические клеточные процессы, в том числе в выработку антиоксидантов, в работу системы репарации ДНК и т. д. [11]. Исследования в подземных низкофоновых лабораториях ставят своей целью обнаружить реакции живых организмов на снижение естественного радиационного фона.

В исследованиях, проведенных на *D. melanogaster*, впервые определено на многоклеточном модельном организме влияние нахождения в лаборатории с пониженным радиационным фоном на продолжительность жизни и фертильность [10]. Авторы этих экспериментов утверждают, что некоторые из эффектов сохранялись в течение нескольких поколений после возврата *D. melanogaster* в условия нормального радиационного фона. Однако эти данные не согласуются с результатами компьютерного моделирования и экспериментов по контролируемой эволюции у бактерий [27, 29]. Возможно, что какую-то роль в объяснении этих противоположных результатов может сыграть разный уровень организации используемых организмов (бактерий и *D. melanogaster*), что не позволяет достоверно сравнивать полученные данные, например, за счет эффекта свидетеля [30]. Объяснение сокращения фертильности *D. melanogaster* в условиях пониженного фона не найдено, но авторы предполагают, что оно может быть связано с влиянием пониженного фона на изменение активности системы репарации ДНК [10]. Действительно, репарация ДНК играет важную роль в процессах мейоза [31], возможно, что сперматогенез и оогенез подвержены влиянию понижения радиационного фона. Авторы исследования [11] считают сниженную фертильность и увеличенную продолжительность жизни вероятным компромиссом между процессами выживания и размножения. Немаловажно, что изменения, затрагивающие рост и развитие *D. melanogaster*, наблюдались уже в течение первых 10–12 сут

нахождения в лаборатории Гран-Сассо [11]. Объяснение столь быстро наступающего ответа также могло бы способствовать пониманию механизмов адаптации к условиям лаборатории пониженного радиационного фона.

Ионизирующее излучение приводит к изменениям в структуре нуклеиновых кислот, белков, липидов как путем прямой ионизации, так и опосредованно — путем образования активных форм кислорода. Эффекты от воздействия ионизирующего излучения могут наблюдаться как в одиночных клетках, так и в группах клеток, способных к межклеточной коммуникации [32]. Учитывать многие параметры возможного ответа на понижение естественного радиационного фона позволяют современные методы компьютерного моделирования. Результаты проведенного моделирования не позволяют объяснить наблюдаемые в лабораториях пониженного радиационного фона эффекты с помощью простых механизмов передачи энергии в объеме клеток живых организмов [27, 33]. В экспериментах по моделированию эффект воздействия радиационного фона может быть оценен путем подсчета частоты взаимодействия ионизирующего излучения с клетками и расчета передачи энергии внутри них [27], при этом нужно учитывать совместный вклад малых доз, малых размеров клеток и незначительную продолжительность экспериментов. Чаще всего для моделирования ситуации попадания ионизирующего излучения в клетки используется программный пакет Geant4, основанный на методе Монте-Карло. С помощью моделирования было показано, что для бактериальной культуры *E. coli* частота взаимодействия клетки с ионизирующим излучением составляет $6,0 \cdot 10^{-5}$ событий в сутки в условиях естественного радиационного фона и $1,37 \cdot 10^{-5}$ событий в сутки в условиях низкофоновой лаборатории в Модане [27], что вызывает сомнения в том, что естественный радиационный фон может иметь регистрируемое влияние на клеточный метаболизм. Дальнейшие эксперименты по моделированию показали, что даже при увеличении значений естественного радиационного фона до уровня фона рядом с Чернобыльской АЭС или Фукусимой его влияние на уровень антиоксидантов незначителен [34].

Важная роль в объяснении механизмов эффектов от снижения радиационного фона отводится активным формам кислорода [25], существующим в клетках и межклеточном пространстве, которые в малых концентрациях выступают как регуляторы биологических процессов роста [3], репарационных систем и т.д., а при превышении определенных значений они становятся повреждающими агентами. В ответ на возникновение активных форм кислорода наблюдается увеличение уровня антиоксидантов в клетке, однако влияние продуктов радиолитического распада на общую концентрацию активных форм кислорода в условиях даже превышенного в несколько раз радиационного фона не выявлено [34], из чего можно предположить, что в границах естественного радиационного фона и при более низких его значениях активные формы кислорода значительной регулирующей роли не играют [34].

Следует отметить, что ряд клеточных ответов на воздействие низких доз радиации можно объяснить с помощью межклеточной коммуникации. В 1992 г. был открыт эффект свидетеля, заключающийся в появлении в необлученных клетках, имевших межклеточные контакты с облученными клетками, пострадиационных эффектов [35]. Показано, что в процесс передачи информации о радиационном облучении между клетками вовлечены помимо изменения концентрации активных форм кислорода [36, 37] межклеточные щелевые контакты [38], ионы Ca^{2+} [39] и короткие РНК [40]. Однако неясно, является ли эффект свидетеля универсальным биологическим механизмом [30].

Новые методы транскриптомного анализа, в том числе RNA-seq, позволяют анализировать изменения в экспрессии всех генов организма и выявлять генные кластеры, реагирующие на помещение живого объекта в условия пониженного радиационного фона. Первое исследование воздействия пониженного радиационного фона на транскриптомном уровне было проведено на бактерии *S. oneidensis* в лаборатории низкофоновых исследований Центра по захоронению ядерных отходов в Нью-Мексико [25]. Были выявлены изменения в экспрессии генов, вовлеченных в различные метаболические процессы, что авторы этих экспериментов объясняют необходимостью присутствия радиационного фона для поддержания гомеостаза. Это противоречит полученным ранее результатам компьютерного моделирования [27], которые показали, что дозы ионизирующего излучения, близкие к значениям фона, не могут заметно менять клеточную физиологию. Кастилло и др. [41] высказали предположение, что изменения в экспрессии генов возникли из-за уменьшения количества продуктов радиоллиза в клетке в результате понижения естественного радиационного фона. Так как некоторые виды активных форм кислорода регулируют транскрипцию некоторых генов, то экранированные от естественного радиационного фона клетки могут иметь относительно более низкий уровень транскрипции. Как мы отмечали ранее, есть данные, противоречащие этому объяснению [34]. Изменение экспрессии генов, участвующих в трансляции белков, указывает на то, что организмы отвечали на изменения окружающей среды, демонстрируя замедление дыхательного процесса и ускорение транспорта веществ через клеточную мембрану, в том числе веществ, которые могут быть сигнальными факторами для других клеток. Вполне возможно, что регистрируемые в условиях низкофоновой лаборатории изменения в экспрессии генов отражают общую стрессовую реакцию.

Ряд исследователей предполагают, что реакция клеток на низкий уровень радиационного фона может быть связана и с эпигенетическими механизмами [42]. Например, клетки, выращенные в условиях низкого радиационного фона, демонстрировали более высокую частоту мутаций, чем клетки, выращенные в нормальных условиях, даже через 6 мес. дальнейшего роста при естественном радиационном фоне [19]. Предполагается, что фоновое

ионизирующее излучение оказывает стимулирующее действие на клетки, активируя выработку антиоксидантов, что находится в прямом противоречии с беспороговой линейной концепцией.

Итак, можно сказать, что изменения в экспрессии генов одноклеточных организмов в условиях низкого радиационного фона отражают наличие стрессовых реакций, что может свидетельствовать о том, что условия лабораторий пониженного радиационного фона оказывают негативное влияние на эти организмы. Возможно, что клетки обмениваются между собой информацией, которая распространяется различными участниками межклеточной коммуникации, в том числе активными формами кислорода, генерируемыми фоновым ионизирующим излучением. Однако имеющиеся в настоящее время данные указывают на отсутствие значительных изменений в концентрации активных форм кислорода, что ставит под сомнение их посредническую роль. Другим объяснением наблюдаемых изменений может быть сокращение количества ионизирующих частиц, действующих на клетку, что приводит к невозможности запуска какого-то необходимого триггерного механизма. Нельзя исключить и то, что наблюдаемые эффекты стали результатом действия некоторых неучтенных условий проведения эксперимента, оказывающих влияние на живые организмы и дающих воспроизводимые эффекты в различных лабораториях мира.

ЛАБОРАТОРИИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ПРОВЕДЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА

На первом этапе исследований биологического влияния естественного радиационного фона и воздействия космических лучей на живые организмы использовались спроектированные для различных научных и хозяйственных задач тоннели и пещеры в горных массивах, например подземная лаборатория в Мули на глубине 200 м (Пиренеи, Франция) [15]. Затем эксперименты стали переноситься в низкофоновые лаборатории, оборудованные в уже существующих нейтринных обсерваториях — LNGS (Гран-Сассо, Италия), SNOLAB (Садбери, Канада), CNRS (Модан, Франция), БНО (Баксан, Россия) [5, 16, 27, 43]. Все низкофоновые подземные лаборатории создавались для экспериментов по изучению физики частиц и астрофизики, однако в дальнейшем из-за целого ряда уникальных свойств рамки экспериментов расширились до межпредметных исследований в области биологии, медицины, наук о Земле и материаловедения [11]. Также ряд биологических исследований [4, 24, 25, 41] были выполнены в WIPP (Нью-Мексико, США), где на глубине 650 м был установлен экранированный клеточный инкубатор. О планируемых в шахтах биологических экспериментах в условиях пониженного радиационного фона заявляли исследователи из Китая (Erdaogou CJEM) [26]

и Аргентины (ANDES) [44], где создается подземная лаборатория в тоннеле под Андами.

Для изучения влияния пониженного радиационного фона на живые объекты в низкофоновых лабораториях требуется оценка степени экранирования всех компонентов радиационного фона и вклада условий окружающей среды. В подземных лабораториях глубокого залегания происходит самое эффективное экранирование фонового потока космических лучей [11]. При оценке экранирования используют величину «водный эквивалент» (в. э.): примерно 300 м горной породы приравняются к 1 км водного эквивалента. Поэтому ключевым параметром, характеризующим качество экранирования в подземной лаборатории, является величина экранирующего массива скалы, которая в лабораториях, представленных на рис. 3, находится в границах от 650 м (1600 м в. э.) до 2000 м (6000 м в. э.). Массив скалы вокруг подземных лабораторий также является источником фонового излучения, состоящего в основном из нейтронов и гамма-квантов, из-за наличия рассеянных естественных радионуклидов и вторичных частиц, возникающих при взаимодействии мюонов с веществом. Начиная с глубины в несколько сотен метров, плотность потока гамма-излучения не зависит от толщины скального массива, она определяется геологическими свойствами породы и на несколько порядков ниже, чем на поверхности. Этот фон может быть сокращен на порядки путем экранирования и использования изолирующих материалов с пониженной радиационной активностью. Плотность потока нейтронов внутри подземных лабораторий сокращается в 10^2 – 10^4 раз (табл. 2). Нейтроны преимущественно

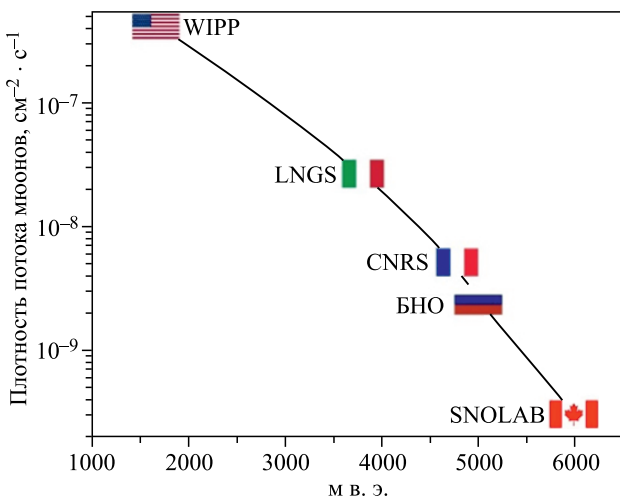


Рис. 3. Степень экранирования плотности потока мюонов в различных низкофоновых лабораториях, в которых проводились биологические эксперименты [45]

Таблица 2. Основные параметры радиационного фона и величина экранирования в метрах водного эквивалента в условиях различных низкофоновых лабораторий [43, 48]

Лаборатория	Толщина экранирующего массива (величина экранирования), м.в.э.	Плотность потока мюонов, $\text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	Плотность потока нейтронов, $\text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	Количество радона $\text{Бк} \cdot \text{м}^{-3}$
LNGS (Италия) [46]	1400 (3800)	$3 \cdot 10^{-8}$	$3,78 \cdot 10^{-6}$	50–120
CNRS (Модан, Франция) [46]	1700 (4800)	$4,7 \cdot 10^{-9}$	$5,6 \cdot 10^{-6}$	15
WIPP (США) [4]	650 (1600)	$4,77 \cdot 10^{-7}$	$6 \cdot 10^{-8}$	7
БНО (пос. Нейтрино, Россия) [43, 47]	1800 (4900)	$3,03 \cdot 10^{-9}$	$1,4 \cdot 10^{-6}$	40
SNOLAB (Садбери, Канада) [5, 46]	2000 (6000)	$3 \cdot 10^{-10}$	$9,3 \cdot 10^{-6}$	120

появляются при процессах (α, n) и распадах урана и тория в скальных породах и строительных материалах, а энергия варьируется от тепловых до нескольких мегаэлектронвольт, поэтому эти нейтроны экранировать несложно. Радон — еще один компонент радиационного фона, требующий контроля, — является продуктом радиоактивного распада ^{226}Ra в скальных породах и присутствует в грунтовых водах. На открытом воздухе количество радона составляет около $50\text{--}100 \text{ Бк} \cdot \text{м}^{-3}$, однако в подземных условиях его количество может быть в десятки раз выше, что требует оснащения низкофоновых подземных лабораторий специальной системой вентиляции. Для дополнительного экранирования внутри лабораторий создают специальные изолирующие камеры, что позволяет ограничить излучение от локальных источников внутри и стабилизировать целый ряд параметров. Кроме того, возможно создание дополнительной изоляции с формированием купола из свинца и меди [43], а также применение в строительстве материалов с пониженным содержанием радионуклидов.

Помимо величины плотности потоков мюонов, нейтронов, гамма-квантов и концентрации радона при проведении биологических экспериментов в низкофоновых лабораториях необходимо контролировать вклад ^{40}K от питательных сред, а также ряд нерадиационных параметров (таких как температура, влажность, давление, газовый состав, содержание микрочастиц и микроорганизмов, освещенность) и их постоянство на протяжении всего эксперимента, так как изменения в условиях окружающей среды в ходе эксперимента могут вызывать в организмах биологические ответы, не связанные с понижением радиационного фона.

Первой полноценной подземной лабораторией является БНО ИЯИ РАН, основанная в 1966 г. под руководством М. А. Маркова, возглавлявшего физическое отделение РАН СССР. БНО создавалась для исследований в областях ядерной физики, физики частиц и астрофизики и находится в пос. Нейтрино на территории Кабардино-Балкарии РФ.

В составе БНО находится лаборатория низкофоновых исследований глубокого залегания (DULB-4900), которая является единственной российской низкофоновой лабораторией и одной из самых глубоких подземных лабораторий мира и обладает уникальными условиями для проведения экспериментов. Низкофоновая лаборатория глубокого залегания DULB-4900 расположена в самой дальней точке горизонтального тоннеля под горой Андрычи на расстоянии 3700 м от главного входа в БНО (рис. 4). В лаборатории началась работа в 1990-е гг., а в 2008 г. она была переоборудована и модернизирована [43]. DULB-4900 представляет собой зал размерами $6 \times 6 \times 40$ м, оборудованный вентиляцией. Толщина экранирующего горного массива составляет около 1800 м (4900 м в. э.), что обеспечивает сокращение плотности потока космической лучей до остаточных значений $3,0 \cdot 10^{-9} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Внутри лаборатории имеется восемь отдельных камер с индивидуальной многослойной защитой, в которых возможно проведение независимых длительных экспериментов [43]. Стены, двери, полы и крыши низкофоновых камер состоят из нескольких слоев: полиэтилена толщиной 25 см, кадмия толщиной 1 мм и 15-см слоя высокочистого свинца. Внутренняя и внешняя поверхность камер покрыты стальными листами толщиной 3 мм, которые для предотвращения

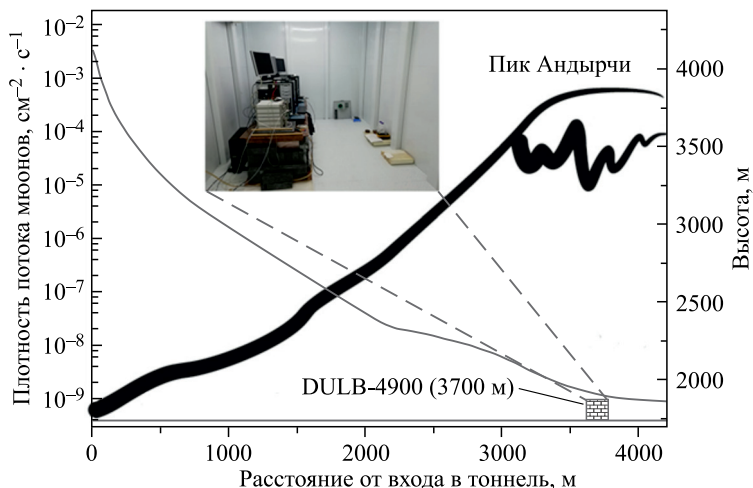


Рис. 4. Схема расположения и внутренний вид одной из камер низкофоновой лаборатории DULB-4900 внутри скалы Андрычи

коррозии металла лакировали составом с низкой активностью. Размеры внутренних частей всех экранированных камер составляют $2,5 \times 3,2 \times 2,5$ м. Еще большего экранирования внутри камер можно достичь путем помещения экспериментальных образцов в свинцово-медный купол, что позволяет уменьшить плотность потока гамма-квантов и нейтронов от естественных радиоактивных источников в окружающих скалах и конструкционных материалах еще приблизительно в 300 раз [43]. Средний уровень активности радона в помещениях лаборатории составляет $35,2 \text{ Бк} \cdot \text{м}^{-3}$ [43]. Условия в лаборатории DULB-4900 постоянны в течение года, что является ее большим преимуществом. Влажность воздуха в лаборатории колеблется в пределах $8\text{--}12 \text{ г/м}^3$ [47], атмосферное давление ~ 620 мм рт. ст., температура в зале $\sim 27^\circ\text{C}$, температура в камерах поддерживается специальным оборудованием на уровне 24°C .

Показатели радиационного фона в лаборатории постоянно контролируются с помощью сцинтилляционных детекторов на основе кристаллов NaI(Tl) [43, 47, 49]. Таким образом, достигаемый уровень радиационного фона в DULB-4900 и наличие всей сопутствующей инфраструктуры позволяют использовать данную лабораторию для проводимых БНО ИЯИ РАН и Лабораторией ядерных проблем (ЛЯП) ОИЯИ исследований по изучению эффектов пониженного радиационного фона на живых организмах.

ПЕРСПЕКТИВЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА. СОВМЕСТНЫЕ РАБОТЫ ЛЯП ОИЯИ И БНО ИЯИ РАН

На данном этапе исследований для ряда полученных экспериментальных данных дискуссионным остается вопрос, являются ли зарегистрированные эффекты следствием влияния условий пониженного радиационного фона или это результат воздействия неучтенных факторов окружающей среды, различных для помещений внутри низкофоновых лабораторий и помещений с естественным радиационным фоном (например, содержания CO_2 , влажности и т. п.). Для ответа на данный вопрос важным является использование современных протеомных и транскриптомных методов молекулярной биологии, позволяющих выявить генетические и белковые основы наблюдаемых эффектов и необходимые для идентификации и контроля широкого спектра параметры клеток и организмов. В настоящее время с помощью омиксных технологий удалось зарегистрировать изменения в группах генов у бактерий, связанных с трансляцией белков и общим стресс-ответом [24]. Для лучшего понимания клеточных ответов необходимо изучение низкофоновых эффектов в отдельных клетках с использованием новейших методов анализа единичных клеток. Кроме того, в последнее время появились новые возможности применения для сравнительного анализа баз данных, содержа-

щих информацию об экспериментах с различными параметрами фонового ионизирующего излучения. Среди ресурсов такого профиля можно выделить NASA GeneLab (genelab.nasa.gov) [2], ставшую специализированным агрегатором данных транскриптомного анализа, что позволяет строить на основе обширного массива данных гипотезы о происходящих изменениях под действием радиации под Землей, на поверхности и в космосе.

Перспективными задачами могут стать исследования влияния пониженного радиационного фона на продолжительность жизни, чувствительность раковых клеток к радиотерапии и химиотерапии, биосинтез метаболитов и т. п. Эксперименты по контролируемой в условиях низкого фона эволюции позволяют оценивать вклад естественного радиационного фона в частоту возникновения спонтанных мутаций, скорость адаптивных процессов и изучать мутагенез и другие фундаментальные биологические процессы с уменьшенным влиянием факторов, вызванных естественным радиационным фоном. Также интересной будет оценка направления и скорости эволюционных изменений для большого числа поколений (больше 500 в случае *E. coli*) [29] между организмами, находящимися в условиях естественного и пониженного радиационного фона.

Интересным направлением изучения с использованием низкофоновых лабораторий может стать сохранение и длительная консервация генетического/биологического материала, поскольку при длительном хранении и отсутствии активных систем репарации вклад накопленной поглощенной дозы от естественного радиационного фона может быть критическим для целостности ДНК и других биологических веществ.

Как ожидается, детальное изучение влияния низкофоновых условий на живые объекты позволит дать ответы на целый ряд вопросов, в том числе о наличии пороговых значений поглощенной дозы. Линейная беспороговая модель, являющаяся в настоящее время принятой регулирующими организациями (Международной комиссией по радиологической защите, Научным комитетом по действию атомной радиации ООН), предполагает, что сколько угодно малая доза ионизирующего излучения наносит вред живым клеткам и что не существует порогового значения, ниже которого отсутствуют вредные эффекты, однако описан ряд противоречащих этой модели данных, в частности эффект свидетеля и эффект гормезиса [3, 50]. Важное недостающее звено для понимания механизмов данного процесса — отсутствие данных о том, как довольно редкие события взаимодействия между ионизирующим излучением в составе естественного радиационного фона и клетками могут менять динамику развития целой популяции или организма. Возможно, это удастся определить с помощью увеличения времени проведения эксперимента и анализа с использованием компьютерного моделирования, которое является важным инструментом для объяснения многих фундаментальных биологических процессов [33].

Таким образом, вопрос о том, является ли естественный радиационный фон необходимым триггером, запускающим механизмы, повышающие способность организма отвечать на стресс и способствующие выживаемости, остается открытым.

Перспективы использования в экспериментах в низкофоновых физических лабораториях разных модельных организмов ограничены условиями этих лабораторий и физиологическими потребностями организмов, которые, помимо прочего, не должны требовать непрерывного контроля и ухода в течение проводимого эксперимента. Поэтому круг используемых для экспериментов организмов на данный момент ограничен бактериями, простейшими, культурами клеток, дрожжами и *D. melanogaster*. Среди перспективных изучаемых в условиях пониженного радиационного фона видов стоит отметить *D. radiodurans* (высокорезистентный вид бактерий) и *Coregonus clupeaformis*, позволяющие изучать эффекты пониженного радиационного фона в ходе длительного эмбрионального развития [5]. В настоящее время *D. melanogaster* можно считать наиболее подходящим многоклеточным организмом для исследований в низкофоновых лабораториях, так как геном дрозофилы секвенирован, многие физиологические параметры тщательно изучены, а условия содержания хорошо подходят к условиям физических лабораторий.

Ранее проведенные эксперименты в подземных низкофоновых и контрольных поверхностных лабораториях выявили ряд эффектов от подавления естественного радиационного фона. Однако данные, полученные разными коллективами, не позволили создать универсальную модель, объясняющую наблюдаемые события. Поэтому сектором молекулярной генетики клетки ЛЯП ОИЯИ в ноябре 2019 г. были начаты эксперименты совместно с БНО ИЯИ РАН в уникальных условиях низкофоновой лаборатории DULB-4900 с использованием новых молекулярно-биологических методов транскриптомного анализа. Полученные результаты впервые дадут возможность проанализировать реакцию многоклеточного организма *D. melanogaster* на условия пониженного радиационного фона на уровне всех экспрессирующихся генов и оценить полную картину адаптационного ответа. Помимо поиска эффектов на модельном объекте интересным представляется поиск эндемичных организмов, существующих в условиях низкого радиационного фона пещеры БНО на протяжении длительного периода времени и развивших в ходе эволюции механизмы приспособления к ряду условий глубоких подземных тоннелей (пониженному радиационному фону, горячим источникам, низкой освещенности и др.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из новых задач радиобиологии является изучение влияния пониженного радиационного фона на живые организмы с использованием уни-

кальных условий глубоких подземных лабораторий. Изучение живых объектов в отсутствие значительной доли естественного радиационного фона позволяет подавить абиотический фактор, к которому жизнь адаптировалась в течение миллиардов лет, и, таким образом, определить роль ионизирующего излучения как фактора селективного давления и мутагенного агента. Помимо понимания абиотической роли излучения в адаптации и эволюции важным направлением исследований является сохранение генетического материала в подземных лабораториях.

Изучение влияния условий низкого радиационного фона на живые организмы становится невозможным без применения современных полногеномных методов анализа для определения генетических и молекулярных основ наблюдаемых эффектов. Для расширения спектра получаемых данных эксперименты в низкофоновых лабораториях должны дополняться исследованиями с использованием повышенных доз излучения. Как ожидается, детальное изучение различных сценариев адаптивного ответа на отсутствие/присутствие естественного радиационного фона может стать перспективным для понимания зависимости между поглощенной дозой и риском развития раковых заболеваний и других вредных последствий действия ионизирующего излучения на живые организмы. Кроме того, исследования в условиях пониженного радиационного фона могут прояснить некоторые эволюционные процессы, связанные со скоростью спонтанного мутагенеза.

Данные по изучению модельных организмов, анализируемых современными методами, позволяют соотносить происходящие в условиях низкого радиационного фона адаптационные изменения с метаболическими путями и биологическими процессами, таким образом можно обнаружить потенциальный ответ на подавление естественной радиационной составляющей. Очевидно, что в настоящее время не хватает экспериментальных данных, способных объединить в одну модель все реакции живых объектов на снижение радиационного фона. Поэтому исследования, начатые сектором молекулярной генетики клетки ЛЯП ОИЯИ в БНО ИЯИ РАН, в которых впервые на транскриптомном уровне оценивается влияние пониженного радиационного фона на сложный многоклеточный организм *D. melanogaster*, должны выявить группы генов, вовлеченные в ответ на условия лаборатории DULB-4900, и дать важную информацию для дальнейшего анализа и построения общих закономерностей ответа.

Авторы выражают благодарность за помощь сотрудникам БНО ИЯИ РАН А. М. Гангашеву и Ю. М. Гаврилюку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fratini E., Amendola R. Caves and Other Subsurface Environments in the Future Exploration of Mars: The Absence of Natural Background Radiation as Biology Concern // Rend. Lincei. Suppl. 2014. V. 25, No. 1. P. 91–96.*

2. Beheshti A., Miller J., Kidane Y., Berrios D., Gebre S. G., Costes S. V. NASA GeneLab Project: Bridging Space Radiation Omics with Ground Studies // Radiat. Res. 2018. V. 189, No. 6. P. 553–559.
3. Lampe N., Breton V., Sarramia D., Sime-Ngando T., Biron D. G. Understanding Low Radiation Background Biology through Controlled Evolution Experiments // Evol. Appl. 2017. V. 10, No. 7. P. 658–666.
4. Smith G. B., Grof Y., Navarrette A., Guilmette R. A. Exploring Biological Effects of Low Level Radiation from the Other Side of Background // Health Phys. 2011. V. 100, No. 3. P. 263–265.
5. Thome C., Tharmalingam S., Pirkanen J., Zarnke A., Laframboise T., Boreham D. R. The REPAIR Project: Examining the Biological Impacts of Sub-Background Radiation Exposure within SNOLAB, a Deep Underground Laboratory // Radiat. Res. 2017. V. 188, No. 4.2. P. 470–474.
6. Kounatidis I., Ligoxygakis P. Drosophila as a Model System to Unravel the Layers of Innate Immunity to Infection // Open Biol. 2012. V. 2, No. 5. P. 120075.
7. Miles W. O., Dyson N. J., Walker J. A. Modeling Tumor Invasion and Metastasis in Drosophila // DMM Disease Models Mechan. 2011. V. 4, No. 6. P. 753–761.
8. Ocorr K. et al. KCNQ Potassium Channel Mutations Cause Cardiac Arrhythmias in Drosophila That Mimic the Effects of Aging // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104, No. 10. P. 3943–3948.
9. Chen Y. C. D., Dahanukar A. Recent Advances in the Genetic Basis of Taste Detection in Drosophila // Cell. Mol. Life Sci. 2019. V. 77, No. 6. P. 1087–1101.
10. Morciano P. et al. Effects of Reduced Natural Background Radiation on *Drosophila melanogaster* Growth and Development as Revealed by the FLYINGLOW Program // J. Cell. Physiol. 2018. V. 233, No. 1. P. 23–29.
11. Morciano P., Cipressa F., Porrazzo A., Esposito G., Tabocchini M. A., Cenci G. Fruit Flies Provide New Insights in Low-Radiation Background Biology at the INFN Underground Gran Sasso National Laboratory (LNGS) // Radiat. Res. 2018. V. 190, No. 3. P. 217.
12. Nakamura N., Suyama A., Noda A., Kodama Y. Radiation Effects on Human Heredity // Annu. Rev. Genet. 2013. V. 47. P. 33–50.
13. Koval L., Proshkina E., Shaposhnikov M., Moskalev A. The Role of DNA Repair Genes in Radiation-Induced Adaptive Response in *Drosophila melanogaster* Is Differential and Conditional // Biogerontology. 2019. V. 21, No. 1. P. 45–56.
14. Chow C. Y., Reiter L. T. Etiology of Human Genetic Disease on the Fly // Trends Genet. 2017. V. 33. P. 391–398.
15. Planel H. et al. Influence on Cell Proliferation of Background Radiation or Exposure to Very Low, Chronic γ Radiation // Health Phys. 1987. V. 52, No. 5. P. 571–578.
16. Satta L. et al. Low Environmental Radiation Background Impairs Biological Defence of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* to Chemical Radiomimetic Agents // Mutat. Res. Lett. 1995. V. 347, No. 3–4. P. 129–133.
17. Antonelli F. et al. Radiation Biophysics at the Gran Sasso Laboratory: Influence of a Low Background Radiation Environment on the Adaptive Response of Living Cells // Nucl. Phys. B. Proc. Suppl. 2000. V. 87, No. 1–3. P. 508–509.

18. *Satta L. et al.* Influence of a Low Background Radiation Environment on Biochemical and Biological Responses in V79 Cells // *Radiat. Environ. Biophys.* 2002. V. 41, No. 3. P. 217–224.
19. *Carbone M. C. et al.* The Cosmic Silence Experiment: On the Putative Adaptive Role of Environmental Ionizing Radiation // *Radiat. Environ. Biophys.* 2009. V. 48, No. 2. P. 189–196.
20. *Carbone M. C. et al.* Effects of Deprivation of Background Environmental Radiation on Cultured Human Cells // *Nuovo Cim. B.* 2010. V. 125, No. 4. P. 469–477.
21. *Kawanishi M. et al.* Growth Retardation of Paramecium and Mouse Cells by Shielding Them from Background Radiation // *J. Radiat. Res.* 2012. V. 53, No. 3. P. 404–410.
22. *Fratini E. et al.* Low-Radiation Environment Affects the Development of Protection Mechanisms in V79 Cells // *Radiat. Environ. Biophys.* 2015. V. 54, No. 2. P. 183–194.
23. *Ghosal D. et al.* How Radiation Kills Cells: Survival of *Deinococcus Radiodurans* and *Shewanella Oneidensis* under Oxidative Stress // *FEMS Microbiol. Rev.* 2005. V. 29, No. 2. P. 361–375.
24. *Castillo H. et al.* Stress Induction in the Bacteria *Shewanella oneidensis* and *Deinococcus radiodurans* in Response to Below-Background Ionizing Radiation // *Intern. J. Radiat. Biol.* 2015. V. 91, No. 9. P. 749–756.
25. *Castillo H., Li X., Schilkey F., Smith G.B.* Transcriptome Analysis Reveals a Stress Response of *Shewanella oneidensis* Deprived of Background Levels of Ionizing Radiation // *PLoS One.* 2018. V. 13, No. 5. P. 1–22.
26. *Liu J. et al.* History, Advancements, and Perspective of Biological Research in Deep-Underground Laboratories: A Brief Review // *Environ. Int.* 2018. V. 120, No. 6. P. 207–214.
27. *Lampe N. et al.* Simulating the Impact of the Natural Radiation Background on Bacterial Systems: Implications for Very Low Radiation Biological Experiments // *PLoS One.* 2016. V. 11, No. 11. P. 1–19.
28. *Kohn H.I.* Sources, Effects and Risks of Ionizing Radiation. New York: United Nations, 1989.
29. *Lampe N. et al.* Reducing the Ionizing Radiation Background Does Not Significantly Affect the Evolution of *Escherichia coli* Populations over 500 Generations // *Sci. Rep.* 2019. V. 9, No. 1. P. 1–6.
30. *Dickey J. S., Baird B. J., Redon C. E., Sokolov M. V., Sedelnikova O. A., Bonner W. M.* Intercellular Communication of Cellular Stress Monitored by γ -H2AX Induction // *Carcinogenesis.* 2009. V. 30, No. 10. P. 1686–1695.
31. *Bernstein H., Bernstein C., Michod R.* Meiosis as an Evolutionary Adaptation for DNA Repair // *DNA Repair.* 2011. No. 11. P. 357–382.
32. *Blyth B. J., Sykes P. J.* Radiation-Induced Bystander Effects: What Are They, and How Relevant Are They to Human Radiation Exposures? // *Radiat. Res.* 2011. V. 176, No. 2. P. 139–157.
33. *Lampe N. et al.* Background Study of Absorbed Dose in Biological Experiments at the Modane Underground Laboratory // *Europhys. J. Web Conf.* 2016. V. 124, No. 10. P. 00006.

34. *Smith J. T., Willey N. J., Hancock J. T.* Low Dose Ionizing Radiation Produces Too Few Reactive Oxygen Species to Directly Affect Antioxidant Concentrations in Cells // *Biol. Lett.* 2012. V. 8, No. 4. P. 594–597.
35. *Nagasawa H., Little J. B.* Induction of Sister Chromatid Exchanges by Extremely Low Doses of α -Particles // *Cancer Res.* 1992. V. 52, No. 22. P. 6394–6396.
36. *Azzam E. I., De Toledo S. M., Little J. B.* Oxidative Metabolism, Gap Junctions and the Ionizing Radiation-Induced Bystander Effect // *Oncogene.* 2003. V. 22, No. 45. P. 7050–7057.
37. *Mothersill C., Seymour R. J., Seymour C. B.* Bystander Effects in Repair-Deficient Cell Lines // *Radiat. Res.* 2004. V. 161, No. 3. P. 256–263.
38. *Shao C., Furusawa Y., Aoki M., Ando K.* Role of Gap Junctional Intercellular Communication in Radiation-Induced Bystander Effects in Human Fibroblasts // *Radiat. Res.* 2003. V. 160, No. 3. P. 318–323.
39. *Vines A. M., Lyng F. M., McClean B., Seymour C., Mothersill C. E.* Bystander Effect Induced Changes in Apoptosis Related Proteins and Terminal Differentiation in *In Vitro* Murine Nladder Cultures // *Intern. J. Radiat. Biol.* 2009. V. 85, No. 1. P. 48–56.
40. *Ilnytskyi Y., Kovalchuk O.* Non-Targeted Radiation Effects — An Epigenetic Connection // *Mutat. Res.* 2011. V. 714, No. 1–2. P. 113–125.
41. *Castillo H., Smith G. B.* Below-Background Ionizing Radiation as an Environmental Cue for Bacteria // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8, No. 2. P. 1–7.
42. *Merrifield M., Kovalchuk O.* Epigenetics in Radiation Biology: A New Research Frontier // *Frontiers in Genetics.* 2013. V. 4. P. 1–40.
43. *Gavrilyuk J. M. et al.* Working Characteristics of the New Low-Background Laboratory (DULB-4900) // *Nucl. Instr. Meth. A.* 2013. V. 729. P. 576–580.
44. *Civitarese O.* The ANDES Underground Laboratory Project // *Nucl. Part. Phys. Proc.* 2015. V. 267–269. P. 377–381.
45. *Gómez-Cadenas J. J., Martin-Albo J., Mezzetto M., Monrabal F., Sorel M.* The Search for Neutrinoless Double Beta Decay // *Nuovo Cim.* 2012. V. 35, No. 2. P. 29–98.
46. *Bettini A.* The World Deep Underground Laboratories // *Eur. Phys. J. Plus.* 2012. V. 127, No. 9. P. 114.
47. *Alekseenko V. V. et al.* The Study of the Thermal Neutron Flux in the Deep Underground Laboratory DULB-4900 // *Phys. Part. Nucl.* 2017. V. 48, No. 1. P. 34–37.
48. *Bettini A.* Underground Laboratories // *Nucl. Instr. Meth. A.* 2011. V. 64, No. 8. P. 626–627.
49. *Gavrilyuk Yu. M., Gangapshev A. M., Kuzminov V. V., Panasenko S. I., Ratkevich S. S.* Monitoring the ^{222}Rn Concentration in the Air of Low-Background Laboratories by Means of an Ion-Pulse Ionization Chamber // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2011. V. 75, No. 4. P. 547–551.
50. *Calabrese E. J., Mattson M. P.* How Does Hormesis Impact Biology, Toxicology, and Medicine? // *npj Aging and Mechanisms of Disease.* 2017. V. 3, No. 13. P. 1–8.