

ЧАСТОТА ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У ДЕТЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ IN UTERO, И ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ ТЕРРИТОРИЯХ

Метою дослідження було вивчення частоти розповсюженості стабільних і нестабільних хромосомних аберацій у дітей, які отримали короткострокове внутрішньоутробне опромінення або зазнали хронічного впливу низькодозового опромінення у зв'язку з мешканням на забруднених радіонуклідами територіях унаслідок аварії на ЧАЕС. Отримані дані свідчать про те, що частота виникнення різних типів генетичних аномалій у досліджених груп дітей мають складну характеристику. Частота аномалій у цих групах дітей перевищує середній популяційний рівень. Водночас не виявлено статистично достовірних відмінностей між обстеженими групами дітей за частотами розповсюдження різних типів хромосомних та хроматидних аномалій.

Ключові слова: аварія на ЧАЕС, іонізуюче випромінення, цитогенетичні ефекти у дітей.

Целью исследования было изучение частоты встречаемости стабильных и нестабильных хромосомных aberrаций у детей, получивших кратковременное внутриутробное облучение, либо хроническое воздействие низкодозового облучения в связи с проживанием на загрязненных радионуклидами территориях, вследствие аварии на ЧАЭС. Полученные данные свидетельствуют о том, что частота возникновения разных типов генетических аномалий в обследуемых группах детей имеют сложную характеристику. Частота встречаемости аномалий в этих группах детей превышает средний популяционный уровень. В то же время не выявлено статистически достоверных отличий между обследованными группами детей по частотам встречаемости различных типов хромосомных и хроматидных аномалий.

Ключевые слова: авария на ЧАЭС, ионизирующее излучение, цитогенетические эффекты у детей.

The study objective was to assay the incidence of stable and unstable chromosome aberrations in children, exposed to short-term prenatal radiation or to chronic low-dose radiation due to residence on radionuclide-contaminated territories after the ChNPP accident. The obtained data indicate that frequencies of different types of cytogenetic anomalies in investigated children groups have complicated patterns. The frequency of chromosomal anomalies in the investigated groups of children exceeds the average population level. At the same time, no statistically significant differences in frequencies of various types aberrations between this groups of children were revealed.

Key words: ChNPP accident, ionizing radiation, cytogenetic effects in children.

Постановка проблеми. При анализе частот встречаемости цитогенетических аномалий принципиальным становится вопрос о том, связано ли их увеличение с индукцией истинно новых повреждений генотоксическими воздействиями, либо снижается эффективность систем, препятствующих реализации в них спонтанных повреждений ДНК [1].

Для оценки того, вызвано ли появление цитогенетических аномалий собственно их индукцией или является показателем общей дестабилизации генети-

ческого материала, необходимо изучение индивидуальной, внутригрупповой изменчивости по комплексу цитогенетических характеристик. С этой целью в настоящей работе рассмотрена частота встречаемости стабильных и нестабильных aberrаций, которая проанализирована на основании сравнительной оценки вовлечения индивидуальных хромосом в aberrации и в анеуплоидию у детей, получивших кратковременное внутриутробное облучение или подвергающихся хроническому действию низкодозового ионизирующего

излучения в связи с постоянным проживанием на загрязненных радионуклидами территориях вследствие аварии на ЧАЭС.

Материалы и методы исследования. Анализ частот встречаемости цитогенетических аномалий (с применением дифференциального G-окрашивания) в клетках периферической крови проведен у детей, родившихся от беременных на момент аварии женщин, которых эвакуировали из г. Припяти. Возраст детей во время обследования составлял 14-15 лет. Согласно данным лаборатории косвенных и расчетных методов дозиметрии НЦРМ АМН Украины, крайние величины доз общего облучения плода у беременных женщин находились в диапазоне от 5 до 376 мЗв [2], составляя в среднем $31,87 \pm 14,46$ мЗв [13]. Гестационный возраст плода на момент аварии составлял: до 7 недель – у 4,3 % случаев, 8-15 недель – 9,9 % ; 16-25 недель – 41,5 % ; более 25 недель – 44,3 % . Дозовые нагрузки на щитовидную железу плода колебались от 0,0 до 334,0 сГр. В зависимости от гестационного возраста средние дозы на щитовидную железу плода составили: до 8 недель – 0,0 сГр; от 8 до 15 недель – 31,1 сГр; от 16 до 25 недель – 84,5 сГр; более 25 недель – 62,3 сГр. Суммарные эквивалентные дозы облучения тимуса и красного костного мозга плода в группе колебались от 1,0 до 30 сЗв [3].

Вторую группу составили дети, которые постоянно проживают на территориях, загрязненных радио-

нуклидами (пгт Народичи, г. Овруч Житомирской области). Среднегодовые паспортные дозы от внешнего и внутреннего облучения для этих населенных пунктов равнялись 1,5 и 0,77 мЗв соответственно [4].

Для дифференциального G-окрашивания использовали раствор красителя Гимза (Giemsa stain, «Merk», Германия) в соответствии с методом Seabright [5]. Идентификацию индивидуальных хромосом и их перестроек выполняли согласно описанию стандартного кариотипа человека [6].

Результаты исследования и их обсуждение. Цитогенетический анализ показал, что разные типы хромосомных aberrаций в среднем на одного ребенка встречаются чаще у детей, облученных *in utero* ($2,5 \pm 0,4$ %), чем у постоянно проживающих на загрязненных радионуклидами территориях ($1,3 \pm 0,4$ %). В общем можно отметить наличие определенной тенденции к увеличению частот встречаемости разных хромосомных aberrаций в соматических клетках у детей, облученных *in utero* (табл. 1).

Следует отметить, что дицентрики и кольцевые хромосомы традиционно принято рассматривать как «лучевые маркеры». Предполагается, что именно увеличение частот их встречаемости наиболее объективно отражает величину дозы облучения, полученную индивидуумом, в связи с чем они широко используются с целью ретроспективной реконструкции полученных доз [7].

Таблица 1

Частота aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у детей, облученных *in utero* (1), и детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях (2), $M \pm m$

Типы aberrаций	1 1600 метафаз			2 1600 метафаз		
	n	% от всех aberrаций	Частота встречаемости	n	% от всех aberrаций	Частота встречаемости
Транслокации	6	14,2	$0,37 \pm 0,10$	3	14,4	$0,18 \pm 0,10$
Делеции	20	47,6	$1,25 \pm 0,30$	11	52,5	$0,68 \pm 0,20$
Инверсии	5	11,9	$0,31 \pm 0,10$	2	9,5	$0,12 \pm 0,07$
Дицентрики	1	2,5	$0,06 \pm 0,05$	1	4,7	$0,06 \pm 0,05$
Кольца	2	4,7	$0,12 \pm 0,07$	–	–	–
Инсерции	5	11,9	$0,31 \pm 0,12$	–	–	–
Парные фрагменты	1	2,5	$0,06 \pm 0,05$	3	14,2	$0,18 \pm 0,10$
Одиночные фрагменты	2	4,7	$0,12 \pm 0,07$	1	4,7	$0,06 \pm 0,05$
Всего	42			21		

Частота встречаемости нестабильных хромосомных aberrаций (дицентрики, кольцевые хромосомы, парные и одиночные фрагменты) в рассматриваемых группах детей довольно низкая и мало отличалась между собой; у детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, при рассмотренном количестве метафаз кольцевые хромосомы даже не обнаруживались. Однако стабильные маркеры, такие как транслокации, инверсии, инсерции в группе детей, облученных *in utero*, суммарно выявлялись в 3 раза чаще, чем у жителей контаминированных регионов. Следовательно при остром внутриутробном облучении у детей в большей степени накапливаются стабильные цитогенетические эффекты, нежели нестабильные хромосомные аномалии. Анализ различных типов хромосомных перестроек (т. е. гетерогенности хромосомных аномалий) в обеих группах показал, что более распространенными из них в порядке убывания

являются делеции, реципрокные транслокации, инверсии и инсерции.

Ранее предполагали, что разрывы хромосом и их воссоединения возникают случайно по длине хромосом, а частота их встречаемости зависит от ДНК в данной хромосоме. В последнее время накапливаются данные о том, что вовлечение индивидуальных хромосом в цитогенетические аномалии имеет более сложный характер [8]. Показано, что в популяциях людей, проживающих в условиях повышенного радиационного фона, наблюдается преимущественное участие в хромосомных aberrациях 3-й и 6-й хромосом в сравнении с другими [9]. Авторы предполагают, что такая «неравномерность» распределения хромосомных aberrаций по индивидуальным хромосомам обусловлена локализацией протоонкогенов. Однако известно, что количество протоонкогенов, сайтов хромосомной нестабильности (фрагильных сайтов) в хромосомах млекопитающих

достаточно велико [10]. Поэтому можно ожидать определенную популяционную специфичность такого избирательного участия отдельных хромосом в цитогенетических аномалиях, в связи с чем выполнен анализ вклада индивидуальных хромосом в различные типы цитогенетических аномалий у каждого из обследованных детей.

В выявленных цитогенетических аномалиях в клетках периферической крови в группах обследованных детей суммарно участвовали 19 из 22 аутом кариотипа человека. У детей, облученных *in utero* и несущих хромосомные аномалии различных типов, в клетках периферической крови вовлекается большинство хромосом, за исключением 19, 20, 21 (группы F, G). Наиболее часто обнаруживаются повреждения 2-ой хромосомы (16,6 % всех случаев), 1-й (14,2 %) (группа A), 13-й (14,2 %) и 15-й (6,5 %) (группа D), которые вместе составляют более 50 % от всех обнаруженных хромосомных аберраций. У одного из обследованных выявлен клон с делецией 13-ой хромосомы (16 клеток из 200).

Практически у всех детей из группы проживающих на загрязненных радионуклидами территориях вовлечение отдельных хромосом соответствовало распределению, при котором вероятность участия каждой из

них была приблизительно одинаковой, за исключением тех же трех хромосом (19, 20, 21), а также 13-ой и 17-ой. Преимущественно вовлекаются во внутри- и межхромосомные повреждения хромосомы 3 (9,5 %), 14 (9,5 %), и 16 (9,5 %), то есть хромосомы, принадлежащие к тем же группам (A, D, E), что и у детей, облученных *in utero*.

Таким образом, в общем частота участия хромосом во внутривхромосомных повреждениях в определенной степени ассоциируется с количеством в них ДНК (длиной хромосом), однако это не является строгим правилом для всех хромосом. Можно полагать, что длина хромосом является только одним из ряда факторов, влияющих на распределение цитогенетических аномалий по геному, который не всегда вносит существенный вклад в этот процесс. По-видимому, у разных особей соотношение влияния таких факторов может иметь индивидуальный характер. Это приводит к тому, что у отдельных особей в хромосомные аберрации относительно чаще вовлекались большие хромосомы по сравнению с малыми.

У детей, облученных *in utero* и проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, произведен анализ частот встречаемости анеуплоидных клеток (табл. 2) и участия в анеуплоидии различных хромосом.

Таблица 2

Суммарная частота встречаемости анеуплоидии у детей, облученных *in utero* и проживающих на загрязненных радионуклидами территориях

Дети	n	n*	Частота анеуплоидных клеток	Частота гипоплоидных клеток	Частота гиперплоидных клеток
Облученные <i>in utero</i>	1600	119	9,1 %	8,9 %	0,2 %
Проживающие на загрязненных территориях	1600	102	7,8 %	7,7 %	0,1 %

Примечания: n – количество клеток, n* – количество анеуплоидных клеток.

Показано, что статистически достоверные различия по частотам встречаемости анеуплоидных клеток между детьми, облученными *in utero* (0,073) и постоянно проживающими на загрязненных радионуклидами территориях (0,063), отсутствуют. В соматических клетках наблюдается широкий размах колебаний частоты спонтанного уровня анеуплоидии. В культуре лимфоцитов периферической крови человека частота гиперплоидных клеток колеблется от 0,4 до 4,5 %, гипоплоидных – от 2,1 до 12,8 % [11]. В условиях воздействия хронического низкоинтенсивного облучения не выявлено существенного увеличения уровня гипер- и гипоплоидных клеток, причем суммарное количество гиперплоидных клеток у детей, облученных *in utero*, составило 0,2 %, а у проживающих на загрязненных радионуклидами территориях – 0,1 %.

Вовлекаемость отдельных хромосом в анеуплоидию характеризуется значительной изменчивостью. При суммировании всех просмотренных метафаз у детей, облученных внутриутробно, была обнаружена потеря 156 хромосом. Из них реже всего «терялись» хромосомы из группы A. Выявлена тенденция к более частому вовлечению в анеуплоидию хромосомы 18 и хромосом мелкого калибра. Тем не менее, в целом наблюдаются выраженные индивидуальные отличия по равновероятной и преимущественной утрате отдельных хромосом между обследованными детьми.

Анализ анеуплоидии во всех суммарно просмотренных метафазах у детей, постоянно проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, позволил обнаружить потерю 122 хромосом, из которых реже утрачивались также хромосомы из группы A. У двух индивидуумов анеуплоидные клетки не были обнаружены. В обобщенном виде отмечена тенденция вовлечения хромосом в эту цитогенетическую аномалию в зависимости от их размера – большие хромосомы утрачиваются реже, но это не является правилом: у некоторых детей частоты утрачиваемости хромосом промежуточного и маленького размеров оказались сходными между собой. Эти данные позволяют предполагать, что утрата хромосом только частично ассоциируется с их размером и контролируется какими-то дополнительными неизвестными факторами.

Выводы. Частоты встречаемости различных типов цитогенетических аномалий у детей, подвергшихся острому (внутриутробно) и хроническому облучению, имеют сложную характеристику. Отсутствуют прямые связи между длительностью радиационного воздействия, его видом (внешнее или внутреннее) и суммарными частотами встречаемости разных типов цитогенетических аномалий. Повышенная частота стабильных хромосомных аберраций (транслокации, инверсии, инсерции) у детей обеих групп, по-видимому, может

отражать общую неспецифическую дестабилизацию генома и тенденцию к накоплению клонов клеток, несущих стабильные хромосомные дефекты, у детей облученных *in utero*. У последних в дальнейшем

можно ожидать увеличение риска репродуктивных нарушений с повышенной вероятностью пороков развития и наличия конститутивных цитогенетических аномалий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marnett L. J., Plataras J. P. Endogenous DNA damage and mutation// Trends in Genetics. – 2001. – Vol. 17, № 4. – P. 214-221.
2. Оценка последствий внутриутробного облучения / [Степанова Е. И., Кондратова В. Г., Галичанская Т. Я. и др.] / Медицинские последствия аварии на ЧАЭС. «Медекол» МНИЦ БИО-ЭКОС, 1999. – Т. 2. – С. 16-23.
3. Степанова С. І. Постнатальні ефекти опромінення плоду / Є. І. Степанова, В. Ю. Вдовенко, Ж. А. Мішаріна // Матер. наук.-практ. конф. – Київ, 2001. – С. 113-114.
4. Дозиметрическая паспортизация населенных пунктов Украины, подвергшихся радиоактивному загрязнению после Чернобыльской аварии. – Киев, 1995. – Т. 5. – С. 312.
5. [Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешів Н. П., Барановская Л. И.] Хромосомы человека : Атлас. – Москва : Медицина, 1982. – С. 263.
6. ISCN 1995. An international system for human cytogenetic nomenclature // F. Mitelman (ed); Karger, Basel. – 1995. – P. 6-115.
7. Anderson D. A., Francis A. J., Godbert P. et al. Chromosome aberration (CA), sister-chromatid (SCE) and mutagen-induced blastogenesis in cultured peripheral lymphocytes from 48 control individuals sampled 8 times over 2 years // Mutat. Res.. – 1991. – Vol. 286. – P. 181-188.
8. Андреев С. Г. Пути обменных взаимодействий хромосомных повреждений, приводящих к внутрихромосомным абберациям, зависят от структуры интерфазных хромосом / С. Г. Андреев, Ю. А. Эйдельман // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 469-474.
9. Il'yinskikh N. N., Il'yinskikh I. N., Il'yinskikh E. N. Chromosome breakage at sites of oncogenes in a population accidentally exposed to radioactive chemical pollution // Mutagenesis. – 1999. – Vol. 14, № 1. – P. 83-86.
10. Hou C.-D., Chiang J., Tai J. J. Testing the nonrandomness of chromosome breakpoints using highest observed breakages // Hum. Genet. – 1999. – Vol. 104. – P. 350-355.
11. Ильинских Н. Н. Инфекционный мутагенез / Н. Н. Ильинских, Е. Ф. Бочаров, И. Н. Ильинских. Новосибирск : Наука. – 1984. – 168 с.

Рецензенты: **Мечов Д. С.**, д.мед.н., профессор;
Бруслова О. М., д.мед.н.

© Коваленко В. В., 2012

Дата надходження статті до редколегії: 24.03.2012 р

КОВАЛЕНКО В. В. – к.б.н., доцент кафедри безпеки життєдіяльності, Національний авіаційний університет, м. Київ, Україна.

Коло наукових інтересів: радіаційна безпека.