

## ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ В ЛИМФОЦИТАХ ЛИКВИДАТОРОВ ЧАЭС КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Чередниченко О.Г., Губицкая Е.Г., Байгушикова Г.М.

Институт общей генетики и цитологии МОН РК, 050060, Казахстан, Алматы, пр. аль-Фараби 75А, *E-mail*: [cherogen70@mail.ru](mailto:cherogen70@mail.ru)

Проблема изучения индивидуальных биологических реакций организма при радиационных воздействиях, поиск наиболее характерных для этих воздействий биологических изменений занимает одно из ключевых мест в современной радиобиологии. Так, еще в середине прошлого столетия возникло особое направление в радиобиологии – биодозиметрия. Существует пять групп ретроспективного выявления последствий дозовых нагрузок на организм при внешнем и внутреннем облучении: цитогенетические, гематологические, иммунобактериологические, биохимические и биофизические. При оценке эффектов биологического действия радиации в малых дозах возможна регистрация цитогенетических и гематологических повреждений: частоты хромосомных перестроек, числа лимфоцитов с микроядрами, а также частоты клеток-носителей соматических мутаций в периферической крови [1].

Мутагенный эффект, индуцированный ионизирующим излучением, может лежать в основе возникновения таких патологических состояний, как наследственные и онкологические заболевания, ускорение процессов старения и др.

Разработанные цитогенетические методы, в частности, метод учета нестабильных и стабильных аберраций хромосом (частота аберрантных клеток и различных типов хромосомных аберраций, сочетание определенных аберраций в аберрантной клетке, характер распределения аберраций по клеткам, соотношение числа парных фрагментов и обменных аберраций, количество аберраций на аберрантную клетку) широко применим и признан для обследования ликвидаторов последствий аварийных ситуаций на радиационно-опасных объектах; населения, проживающего на территориях, загрязненных радионуклидами; для оценки экологической обстановки; для изучения радиационных воздействий на лабораторных животных и т.д. На основе результатов могут прогнозироваться канцерогенные и генетические последствия облучения.

В связи с этим было проведено цитогенетическое исследование ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС, проживающих в Казахстане, результаты которого представлены в табл. 1.

Средняя частота хромосомных нарушений у ликвидаторов ЧАЭС составила  $3,88 \pm 0,26\%$ , что в 4 раза выше, чем у жителей п. Таусугур Алматинской области -  $0,87 \pm 0,1\%$  (экологически чистый, горный поселок), и в 2 раза выше, чем у жителей г. Алматы -  $1,60 \pm 0,12\%$  [2]. По соображениям корректности сравниваемых результатов необходимо сопоставлять сельское население с сельским, городское с городским. Поскольку, по результатам анкетирования все обследуемые проживали в городах дальнейший сравнительный анализ мы проводили с результатами, полученными у жителей г. Алматы.

Анализ спектра цитогенетических нарушений обследованных лиц показал, что в основном встречались аберрации хромосомного типа -  $2,99 \pm 0,24\%$ , хроматидного типа -  $0,89 \pm 0,14\%$ . Такая картина структурных повреждений хромосом может быть связана с преобладающим влиянием радиационных факторов. Сравнительный анализ по типам аберраций (рис. 1) выявил неоднозначные результаты – то, что у ликвидаторов ЧАЭС обнаруживается увеличение частоты аберраций хромосомного типа (в 10 раз) – маркеров радиационного воздействия вполне закономерно. Такое значительное увеличение частоты аберраций хромосомного типа может быть объяснено продолжающимся внутренним облучением, т.е. непосредственным попаданием радиоактивных частиц внутрь организма (например, с пылью или продуктами питания) и оседанием их в разных органах и системах.

При анализе результатов цитогенетического обследования ликвидаторы ЧАЭС были разделены на две группы – проживающие в г. Алматы и в г. Семей (зона влияния Семипалатинского испытательного ядерного полигона).

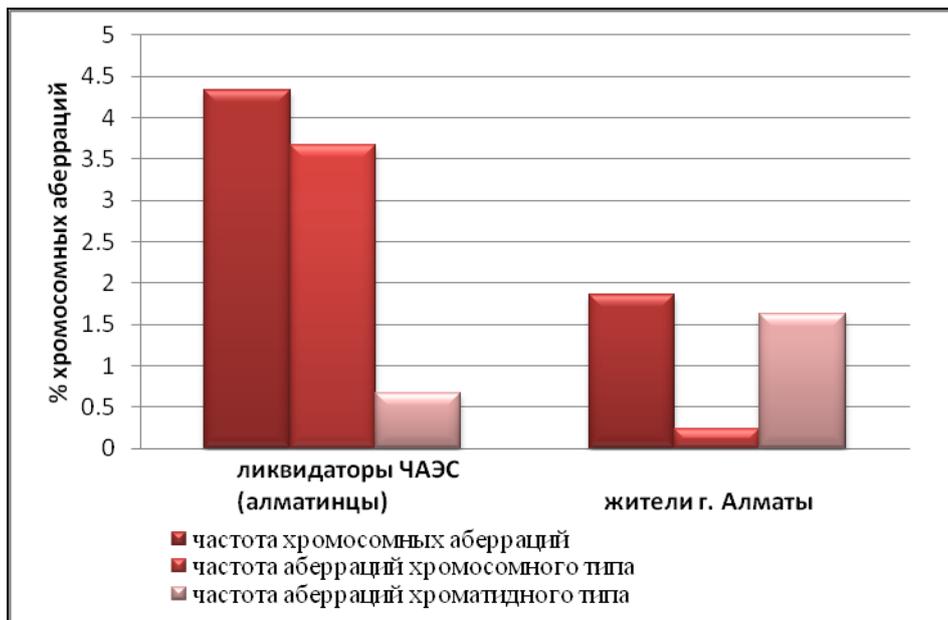
В группе обследованных ликвидаторов из г. Семей частота хромосомных aberrаций составила  $4,0 \pm 0,52\%$ , что практически не отличается от среднегрупповой. Однако структура цитогенетических нарушений у них значительно отличается от таковой у ликвидаторов из г. Алматы (хромосомного типа –  $2,14 \pm 0,38\%$  и  $3,36 \pm 0,31\%$   $p \leq 0,05$ ; хроматидного типа -  $1,86 \pm 0,36\%$  и  $0,47 \pm 0,12\%$   $p \leq 0,01$  соответственно). Более низкая частота aberrаций хромосомного типа - маркеров радиационного воздействия у Семейской группы обследованных свидетельствует о некоторой адаптированности к радиационным факторам, но и значительным влиянием на них химического компонента.

При сравнении цитогенетических данных жителей Алматы, принимавших участие в ликвидации аварии на ЧАЭС и обычного населения, напротив, выявлено, что частота aberrаций хроматидного типа - ( $0,47 \pm 0,12\%$ ) у них в 2,5 раза меньше ( $1,32 \pm 0,15\%$ ) и находится на уровне данных из п. Таусугур ( $0,67 \pm 0,09\%$ ) (рис. 1). Такие данные не совсем понятны и требуют дополнительных исследований.

**Таблица 1 - Цитогенетическое обследование группы ликвидаторов ЧАЭС**

№	Клеток с aberrац.	Всего aberrаций	Соотношение типов хромосомных aberrаций								
			Хромосомный тип					Хроматидный тип			
			всего	дицен	кольца	трансл	фрагм	всего	делец	обмены	фрагм
1	3	3	1				1	2	2		
2	5	8	7	2			5	1			1
3	3	4	4	2			2	0			
4	1	1	1				1	0			
5	1	1	1				1	0			
1.1	2	2	2	1		1		0			
1.2	5	5	5	1			4	0			
1.3	2	2	2				2	0			
1.4	6	6,7	6,7	2			4,7	0			
1.5	5	5	4	1		1	2	1			1
1.6	4,4	4,4	4,4				4,4	0			
1.7	2	2	1				1	1			1
1.8	10	10	10	1,4			8,6	0			
1.10	8	8	6		3	1	2	3	2		1
1.11	4	4	1		1			3	2	1	
1.12	4	4	3			1	2	1	1		
1.13	4	4	2			1	1	2			2
1.14	2	2	1				1	1		1	
1.16	4	4	1				1	3	1		2
1.17	3	3	2				2	1			1
1.18	3	3	2			1	1	1			1
1.19	4	4	2			2		2	1		1
1.20	1	1	1				1	0			
1.21	2	2	2				2	0			
1.22	2,5	2,5	0,5					2			2
1.23	2,4	2,4	1,4				2,4	0			
1.24	3,3	6,7	6,7				6,7	0			
	<b><math>3,57 \pm 0,35</math></b>	<b><math>3,88 \pm 0,26</math></b>	<b><math>2,99 \pm 0,35</math></b>	<b><math>0,38 \pm 0,12</math></b>	<b><math>0,15 \pm 0,07</math></b>	<b><math>0,29 \pm 0,10</math></b>	<b><math>2,18 \pm 0,27</math></b>	<b><math>0,89 \pm 0,14</math></b>	<b><math>0,26 \pm 0,07</math></b>	<b><math>0,07 \pm 0,05</math></b>	<b><math>0,48 \pm 0,12</math></b>

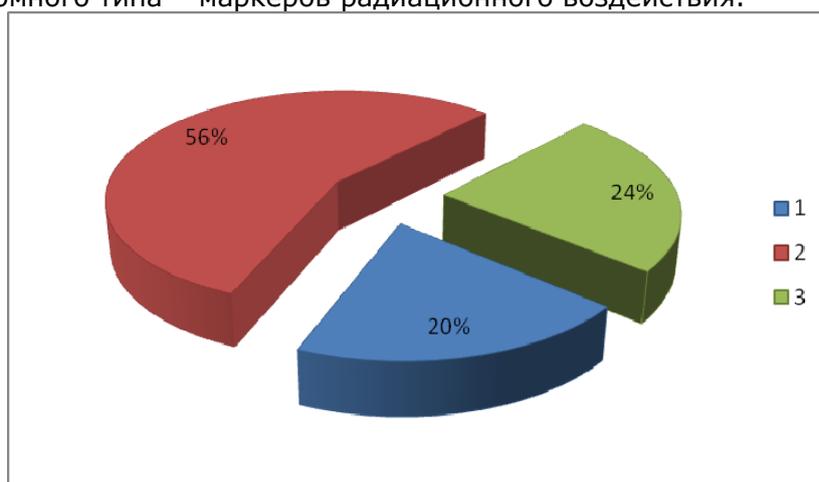
Aberrации хромосомного типа были представлены двойными разрывами и фрагментами, дицентриками и транслокациями, вторые - одиночными разрывами, фрагментами и межхроматидными обменами.



**Рис. 1. Распределение структуры хромосомных aberrаций у обследованных лиц из г. Алматы**

При систематизации частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови обследованный контингент был разделен на три группы: лица, имеющие хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови до 2%, от 2 до 4% и от 5% и выше. Первая группа (1) включает когорту людей, имеющих спонтанный уровень, вторая (2) – повышенный и третья (3) – высокий уровень хромосомных aberrаций. Как видно на рис.2, только у 1/5 изученных лиц (20%) частота выявленных нарушений не превышала общепопуляционного спонтанного уровня для Казахстана, у более половины (56%) она оказалась повышенной и у 1/4 (24%) – высокий. В общей сложности у 80% обследованных частота хромосомных aberrаций превышала спонтанный уровень в 2-5 раз.

Таким образом, проведенный цитогенетический анализ у ликвидаторов ЧАЭС Казахской популяции показал, что даже спустя 25 лет после острого облучения у большинства обследуемых сохраняется повышенный уровень хромосомных aberrаций, особенно хромосомного типа – маркеров радиационного воздействия.



1. до 2% aberrаций
2. от 2 до 4 % aberrаций
3. свыше 5% aberrаций

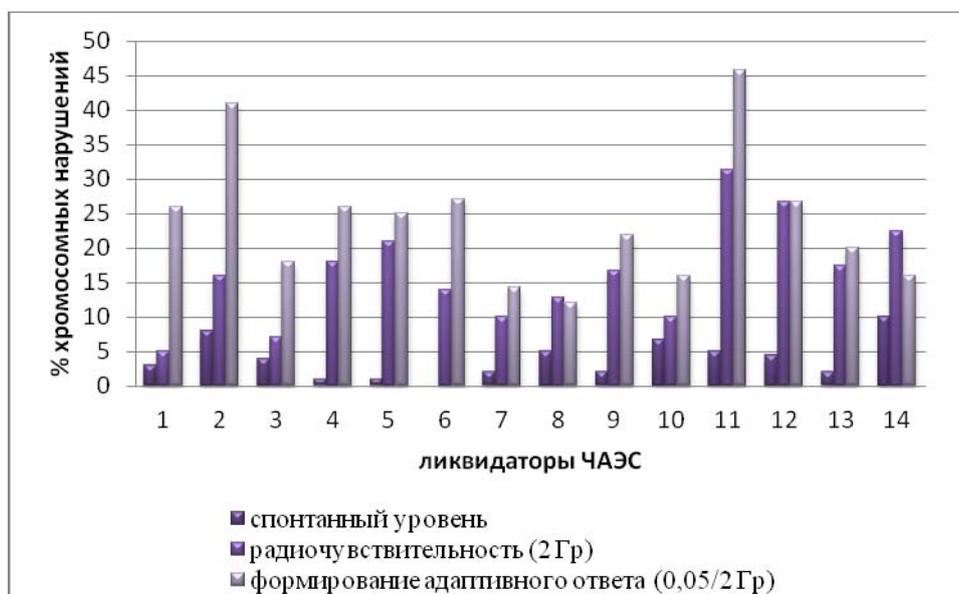
**Рис. 2. Распределение частот хромосомных aberrаций у ликвидаторов ЧАЭС Казахской популяции**

Одной из задач многих мониторинговых работ по цитогенетическому анализу людей, так или иначе подвергающихся радиационному воздействию является вопрос биодозиметрии.

Биологическая дозиметрия по абберациям хромосом в культуре лимфоцитов дает достоверную информацию в случаях относительно равномерного острого облучения [3]. По данным Севанькаева с соавт. (1994) [4, 5] успешная оценка индивидуальной дозы возможна лишь непосредственно после облучения, причем, как правило, однократного острого облучения или же в сравнительно короткие сроки после него (обычно не более чем через 3 – 4 мес.). Это связано с тем, что абберантные клетки с течением времени постепенно элиминируются из циркулирующей крови [6]. Однако Неронова Е.Г. с соавт. (2008), Снегирева Г.П. с соавт. (2008) [7, 8] показали, что у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на протяжении более 20 лет средняя частота хромосомных аббераций в лимфоцитах периферической крови достоверно превышала контрольный уровень. При этом частота дицентриков и центрических колец – маркеров радиационного воздействия была выше аналогичного показателя в контрольной группе в 3,5 – 7 раз в зависимости от сроков работы и длительности нахождения в зоне аварии.

В нашем исследовании попытки реконструкции доз или корреляции цитогенетических нарушений от величины полученной дозы (по результатам анкетирования) не привели к успеху. К сожалению, не выявлена связь частоты цитогенетических нарушений ни с величиной полученной дозы, ни временем нахождения в зоне аварии ЧАЭС, ни возрастом обследуемых. В данном случае, вероятнее всего, ключевую роль играет индивидуальная радиочувствительность - так у ликвидаторов ЧАЭС частота хромосомных аббераций в лимфоцитах периферической крови варьировала в значительных пределах - от 0 до 10 %, при том, что заявленная величина полученной дозы была в пределах 8-10 бэр.

Оценивая негативное влияние воздействия радиации при ликвидации последствий ЧАЭС необходимо учитывать не только частоту хромосомных аббераций, но и нарушение других генетических функций клеток, например радиочувствительность и адаптивный ответ. Исходя из этого, мы изучили состояние радиочувствительности и адаптивного ответа у данной группы людей. Для этого после забора образцов их периферической крови в гепаринизированные флаконы лимфоциты крови подвергали дополнительному облучению *in vitro*, соответствующему условиям выявления радиочувствительности (2 Гр  $\gamma$ -излучения) и адаптивного ответа (0,05/2Гр). Радиочувствительность оценивали по степени увеличения хромосомных аббераций после *in vitro* облучения лимфоцитов крови 2 Гр  $\gamma$ -излучения, по сравнению с аналогичными данными контрольной группы (рис.3).



**Рис. 3. Изучение радиочувствительности и адаптивного ответа у ликвидаторов ЧАЭСКазахстанской популяции**

Частота индуцируемых 2 Гр  $\gamma$ -излучения хромосомных aberrаций у ликвидаторов в среднем составила - 16,3%, в контрольной группе – 30-31%. Т. е. данный контингент обследуемых оказывается частично защищенным от повреждающего воздействия  $\gamma$ -излучения. Тем не менее, при индивидуальном анализе наблюдается гетерогенность популяции по данному критерию - у 2-ух (№ 11,12) обнаруживается радиочувствительность на уровне контрольной группы, у 2 человек (№ 5, 14) тенденция к наличию адаптированности по данному критерию, у остальных (10 человек) регистрируется достоверная радиорезистентность. Однако, при условии индукции адаптивного ответа *in vitro* в лимфоцитах периферической крови (0,05/2 Гр) практически у всех обследуемых в той или иной степени наблюдается радиосенсибилизация. У четырех человек частота хромосомных aberrаций осталась практически на том же уровне, как и при изучении радиочувствительности, у остальных – значительная радиосенсибилизация (23,96%). При этом обнаруживались aberrации только хромосомного типа, которые были представлены двойными разрывами и фрагментами, дицентриками и транслокациями. Такие результаты изучения радиочувствительности и индукции адаптивного ответа свидетельствуют, с одной стороны о наличии состояния защищенности от повреждающего воздействия больших доз  $\gamma$ -излучения, но с другой стороны о состоянии нестабильности генома, т.к. предварительное облучение в адаптирующей дозе приводит к радиосенсибилизации.

При сравнительном анализе группы ликвидаторов аварии на ЧАЭС и жителей экологически неблагоприятных регионов (СИП, г. Усть-Каменогорск) [9] по трем критериям – частоте хромосомных aberrаций, изменениям радиочувствительности и радиоадаптивного ответа установлен примерно одинаковый уровень частоты хромосомных нарушений в обследуемых группах (3,88±0,26% и 3,02±%, 4,0±0,44% соответственно). Однако, характер радиочувствительности под воздействием 2 Гр  $\gamma$ -излучения, отличается в обеих группах. Во второй она практически не отличается от результатов контрольной группы, т.е. отсутствует состояние защищенности от повреждающего воздействия, в первой группе практически у всех людей это состояние регистрируется, т.е. хроническое воздействие мутагенных факторов не способствует снижению радиочувствительности. Формирование адаптивного ответа в лимфоцитах периферической крови людей в обеих группах демонстрирует гетерогенность популяций по данному критерию. Причем эта способность не связана, ни с эпидемиологическими показателями, ни с исходным уровнем частоты хромосомных aberrаций, ни с радиочувствительностью. В связи с этим оценка генетического риска, по всей вероятности, в значительной степени зависит от индивидуальных особенностей, метаболического, физиологического состояния клеток, тканей, организма и от их способности к индукции процессов репарации и др.

## **STUDY OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DISTURBANCES IN LYMPHOCYTES CHERNOBYL LIQUIDATORS KAZAKHSTAN POPULATION**

O.G. Cherednichenko, E.G. Gubitskaya, G.M. Baygushikova  
Institute of General Genetics and Cytology RK, E-mail: cherogen70@mail.ru

### **Литература**

- 1 Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). // М. Физматлит. 2004. С. 323 – 325.
- 2 Губицкая Е.Г., Чередниченко О.Г., Байгушикова Г.М., Ахматуллина Н.Б. Цитогенетический статус жителей Алматинской области // Вестник КазНУ им. Аль-Фараби, сер. Биол., 2007, №2, С. 86-90.
- 3 Пяткин Е.К., Нугис В.Ю., Чирков А.А. Оценка поглощенной дозы по результатам цитогенетических исследований культур лимфоцитов у пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС// Медицинская радиология, 1989, Т.34, № 6, С. 52 – 56.
- 4 Севанькаев А.В., Моисеенко В.В., Цыб А.Ф. Возможности применения методов биологической дозиметрии для ретроспективной оценки доз в связи с последствиями аварии на Чернобыльской АЭС. Оценка доз на основе анализа нестабильных хромосомных aberrаций// Радиационная биология. Радиоэкология, 1994, Т.34, вып. 6, С. 782 – 792.

- 5 Севаньяев А.В., Моисеенко В.В., Цыб А.Ф. Возможности применения методов биологической дозиметрии для ретроспективной оценки доз в связи с последствиями аварии на Чернобыльской АЭС. Оценка доз на основе анализа стабильных хромосомных aberrаций// Радиационная биология. Радиоэкология, 1994, Т.34, вып. 6, С. 793 – 797.
- 6 Нугис В.Ю., Дудочкина Н.Е. Закономерности элиминации aberrаций хромосом у людей после острого облучения по данным культивирования лимфоцитов периферической крови в отдаленные сроки // Радиационная биология. Радиоэкология, 2006, т. 46, № 1, с. 5-16.
- 7 Неронова Е.Г., Слозина Н.М., Макарова Н.В. Цитогенетические нарушения и заболеваемость у ликвидаторов последствий аварий на Чернобыльской АЭС// Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2008, Т.54, № 2, С. 5 – 9.
- 8 Снегирева Г.П., Богомазова А.Н., Новицкая Н.Н., Федоренко Б.С., Хазинс Е.Д. Опыт применения цитогенетического метода в радиационных исследованиях// Вестник Российской Военно-медицинской Академии Приложение I, 2008, № 3 (23), С. 184 – 185.
- 9 Чередниченко О.Г., Искандарова К.А., Исмаилов С.Б. Цитогенетическая оценка влияния генотоксикантов среды на жителей п. Кора Мангистауской области и г. Усть-Каменогорск// в кн. под ред. Ахматуллиной Н.Б. От генетики вирусов до генетики человека. Алматы, 2010, С. 184-191.