

УДК575.224.4; 575.1;616.8

О.Г. Чередниченко, Е.Г. Губицкая

Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

E-mail: cherogen70@mail.ru

**Цитогенетические нарушения в лимфоцитах людей,
профессионально контактирующих с пробами, содержащими радионуклиды
различной интенсивности**

Представлены результаты изучения частоты хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах людей, профессионально контактирующих с радиоактивными пробами. Показано, что частота хромосомных нарушений у людей, контактирующих с фоновыми пробами ($2,62 \pm 0,29\%$) достоверно выше, чем у людей из контрольных групп – поселок Таусугур ($0,87 \pm 0,1\%$) ($p \leq 0,01$); г. Алматы ($1,6 \pm 0,12\%$) ($p \leq 0,01$). Цитогенетический анализ людей, контактирующих с активными пробами ($4,94 \pm 0,28\%$), выявил почти 2-кратное увеличение частоты хромосомных aberrаций по сравнению с коллегами, контактирующими с фоновыми пробами ($p \leq 0,01$). Частота микроядер в исследуемой группе профессионалов составила $0,387 \pm 0,055\%$ по сравнению с контролем $0,31 \pm 0,032\%$ ($p \geq 0,1$). Корреляционный анализ между частотой хромосомных нарушений и зарегистрированной дозиметрами дозой облучения в год показал отсутствие связи между этими показателями.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, микроядра, ионизирующее излучение, биодозиметрия.

О.Г. Чередниченко, Е.Г. Губицкая

**Әртүрлі жиіліктегі радионуклидтері бар сынама-лар мен тікелей байланыста болатын
адамдарда лимфоциттеріндегі цитогенетикалық бұзылулар**

Фондық сынама-лар мен тікелей байланыста болатын адамдарда ($0,87 \pm 0,1\%$) ($p \leq 0,01$), ал экологиялық таза аймақ таулы Таусүгір ауылы адамдарында ($2,62 \pm 0,29\%$) қарағанда және Алматы қаласы тұрғындарымен салыстырғанда ($1,6 \pm 0,12\%$) ($p \leq 0,01$) жоғары болды. Адамдарда жүргізілген цитогенетикалық зерттеу нәтижелерін талдау белсенді сынамамен кәсіби мамандығы бойынша тікелей байланыста болатын адамдарда ($4,94 \pm 0,28\%$), фондық сынамамен байланыста болатын кәсіпестеріне қарағанда хромосомалық aberrациялар жиілігі ($p \leq 0,01$) екі есеге жоғары екендігін көрсетті. Кәсібилерді зерттеу тобында микроядро жиілігі $0,387 \pm 0,055\%$, бақылау тобымен салыстырғанда $0,31 \pm 0,032\%$ ($p \geq 0,1$ тең болды). Хромосомалық бұзылулар жиілігін және жыл бойына дозиметрмен бекітілген дозаларды корреляциялық талдау осы көрсеткіштердің арасында байланыстың жоқ екендігін көрсетті.

Түйін сөздер: хромосомалық aberrациялар, микроядролар, иондаушы радиация, биодозиметрия

O.G. Cherednichenko, E.G. Gubitskaya

**The cytogenetic aberrations in lymphocytes of people who professionally contact with
the sample containing various intensity radionuclides**

The study of the frequency of chromosome aberrations and micronuclei in lymphocytes of people, professionally contacting with radioactive probes was conducted. It was shown that the frequency of chromosomal abnormalities in humans exposed to background samples ($2,62 \pm 0,29\%$) was significantly higher than that of control groups of people - the village Tausugur ($0,87 \pm 0,1\%$) ($p \leq 0,01$), Almaty ($1,6 \pm 0,12\%$) ($p \leq 0,01$). Cytogenetic analysis of people who deal with the active samples ($4,94 \pm 0,28\%$), revealed nearly 2-fold increased frequency of chromosome aberrations compared to people who deal with the baseline

samples ($p \leq 0,01$). The frequency of micronuclei in the group of professionals was $0,387 \pm 0,055\%$ and the same frequency in control group was $0,31 \pm 0,032\%$ ($p \geq 0,1$). The correlation analysis between the chromosomal abnormalities frequency and radiation dose per year showed no association between these factors.

Keywords: chromosomal aberrations, micronuclei, ionizing radiation, biodosimetry.

Дозиметрия как научная дисциплина и как практика формировалась, в первую очередь, под необходимостью обеспечения радиационной безопасности персонала, работающего на предприятиях ядерно-топливного цикла. В эту категорию входят работники, облучающиеся в полях излучений на ускорителях, добывающие урансодержащую руду, в той или иной степени контактирующие с радиоактивными пробами и другие категории работающих в радиационно-опасных условиях [1, 2].

Контроль облучения персонала с использованием индивидуальных дозиметров является существенным компонентом при оценке эффективности любой программы радиационной безопасности, направленной на ограничение облучения работников. С другой стороны, существует проблема изучения индивидуальных биологических реакций организма при радиационных воздействиях, поиск наиболее характерных для этих воздействий биологических изменений и уровня этих изменений. Методы биодозиметрии (хромосомный анализ и др.) позволяют определять интегрированную

эффективную эквивалентную дозу облучения за все время проживания человека в радиационно-загрязненных районах либо при профессиональной деятельности как от внешних, так и внутренних факторов радиационного воздействия [3].

В данной работе цитогенетическими методами (изучение частоты хромосомных aberrаций и микроядерный тест в лимфоцитах периферической крови [4, 5]) были обследованы люди, профессионально контактирующие с источниками ионизирующей радиации (34 человека). По степени профессионального вреда они разделены на лиц, контактирующих с фоновыми (13 человек) и активными (21 человек) пробами.

Частота хромосомных нарушений у людей, контактирующих с фоновыми пробами ($2,62 \pm 0,29\%$), почти в 3 раза выше, чем у людей из экологически чистого, горного поселка Таусугур ($0,87 \pm 0,1\%$) ($p \leq 0,01$) и более чем в 1,5 раза выше, чем у жителей г. Алматы ($1,6 \pm 0,12\%$) ($p \leq 0,01$). Проведенный сравнительный анализ по типам aberrаций с контрольными группами

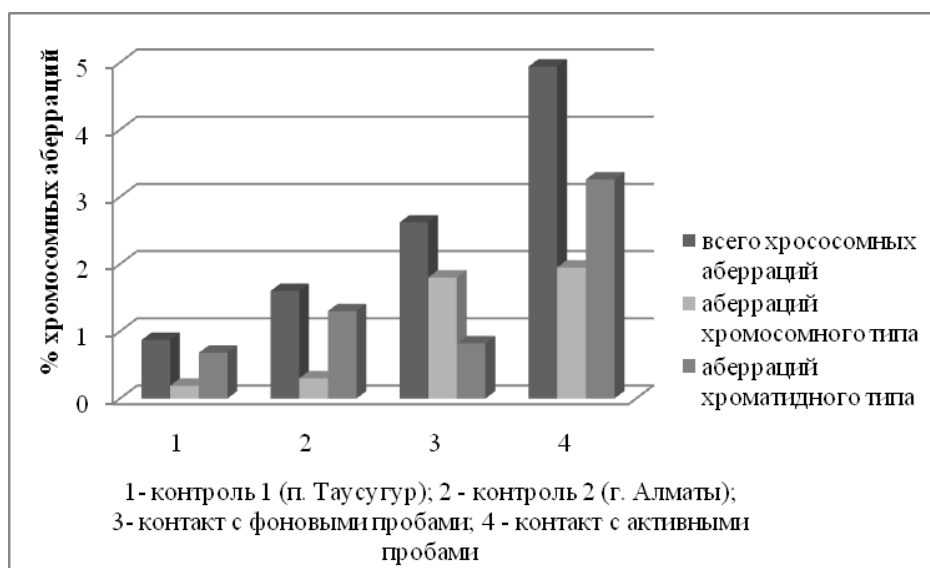


Рисунок 1 - Распределение структуры хромосомных aberrаций у обследованных групп профессионалов, контактирующих с фоновыми и активными пробами

(п. Таусугур, г. Алматы) показал, что частота aberrаций хроматидного типа находится практически на уровне данных из п. Таусугур и в 1,6 раза меньше, чем у жителей г. Алматы [6].

Полученные данные вполне объяснимы, так как хроматидные aberrации в основном являются показателями химического воздействия, а в г. Курчатов практически нет химических загрязнителей (различных производств, выхлопных газов автотранспорта и т.д.), в отличие от г. Алматы. Совершенно иная ситуация наблюдается при сравнении aberrаций хромосомного типа. В данном случае она увеличилась в 10 и 6 раз, соответственно, что указывает на преимущественное влияние генотоксикантов радиационной природы. Aberrации хромосомного типа были представлены двойными разрывами и фрагментами, дицентриками и транслокациями, хроматидного типа – одиночными разрывами и фрагментами.

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 («в») – высокий уровень хромосомных aberrаций. Только у 1/3 изученных лиц (36%) частота выявленных нарушений не превышала общепопуляционного спонтанного уровня для Казахстана, у более половины (55%) она оказалась повышенной и у 1/10 (9%) – высокой. В общей сложности у 64% обследованных частота хромосомных aberrаций превышала спонтанный уровень в 2-5 раз.

Из всех видов aberrаций хромосом для целей диагностики радиационных поражений чаще всего используется подсчет дицентриков, ацентрических фрагментов и центрических колец, т.е. aberrаций хромосомного типа. Проведенный анализ распределения частот aberrаций хромосомного типа по степени увеличения от контрольных показателей показал, что количество людей, имеющих средний уровень частоты aberrаций хромосомного типа, практически не изменился, однако, значительно уменьшилась группа людей с низким уровнем частоты aberrаций хроматидного типа и увеличилась с высокой частотой. Это еще раз свидетельствует,

что увеличение цитогенетических нарушений происходит за счет повышения числа двуударных хромосомных перестроек (дицентриков, колец, транслокаций, двойных разрывов и фрагментов), являющихся маркерами радиационного воздействия

Анализ результатов цитогенетического обследования людей, профессионально контактирующих с активными пробами ($4,94 \pm 0,28\%$), показал почти двукратное увеличение частоты хромосомных aberrаций по сравнению с коллегами, контактирующими с фоновыми пробами ($2,62 \pm 0,29\%$) ($p \leq 0,01$). Однако это увеличение в основном происходит за счет увеличения aberrаций хроматидного типа, в то время как частота aberrаций хромосомного типа – индикатора радиационного воздействия практически не изменилась. Вероятно, это связано с использованием в профессиональных целях также и химических веществ высокого мутагенного потенциала.

При аналогичном обследовании профессионалов-«физиков», работающих с источниками γ -излучения, обнаружено повышение числа и aberrантных клеток ($13,7 \pm 1,1\%$), и aberrаций до $14,3 \pm 1,1\%$, причем как хромосомного, так и хроматидного типов. Индивидуальные колебания частот хромосомных aberrаций составили 8-17%. Корреляции между возрастом и продолжительностью работы во вредных условиях и выходом хромосомных нарушений также не было отмечено.

Средняя частота хромосомных aberrаций у рентгенологов была в два раза меньше ($6,3 \pm 0,18\%$), чем у профессионалов-«физиков», контактировавших с источниками γ -излучений ($13,7 \pm 1,1\%$), хотя в три раза превышала контроль. Индивидуальные колебания частот клеток с хромосомными нарушениями составили в основном 1-10%, лишь у одной женщины обнаружено 19% aberrантных клеток. Спектр хромосомных нарушений был представлен преимущественно aberrациями хромосомного типа, частота которых была в два раза выше ($4,8 \pm 0,15\%$), чем aberrаций хроматидного типа ($2,2 \pm 0,1\%$) [7].

Систематизация частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови людей, контактирующих с активными пробами, показала, что частота нарушений, не превышающая общепопуляционный спонтанный уровень для Казахстана, ни у кого не была

зарегистрирована, у 35% профессионалов она оказалась повышенной и у 2/3 –высокой (65%).

Анализ распределения частот аберраций хромосомного типа показал, что люди, чья профессиональная деятельность связана с воздействием радиации, имеют практически равное распределение по группам, имеющих средний и высокий уровень частоты аберраций хромосомного типа, и отсутствуют индивидуумы с нормальными показателями.

Проведенный корреляционный анализ показал отсутствие связи между этими показателями.

Исследование клеток с микроядрами в двуядерных лимфоцитах у лиц, профессионально контактирующих с активными радиационными пробами, выявило, что частота микроядер составила $0,387 \pm 0,055\%$, кроме того, отмечено появление клеток с двумя микроядрами – $0,02 \pm 0,01\%$. Фоновая частота клеток с микроядрами в группе контроля составила $0,31 \pm 0,032\%$. Различия между этими величинами не достоверны ($p \geq 0,05$). Полученные результаты согласуются с литературными данными, что достоверное отличие уровня микроядер от контрольного выявляется, начиная с дозы $0,25$ Гр [8,9]. Корреляционный анализ не выявил связи между частотой микроядер и полученной профессионалами дозой облучения в год. Тем не менее в группе людей, у которых отмечены повышенные дозы полученного облучения выше 1000 мкЗв, частота микроядер составила $0,443 \pm 0,077\%$, следует отметить, что клетки с парными микроядрами относятся также к этой группе. Использование в качестве

показателя клеток с 3 и более микроядрами может быть дополнительным свидетельством факта облученности, так как такие формы не встречаются у здоровых лиц.

В связи с высокой межиндивидуальной вариабельностью как спонтанной частоты, так и радиочувствительности индивидуумов неопределенность дозовой зависимости делает указанное выше преимущество микроядерного теста сомнительным для целей биодозиметрии. Однако использование микроядерного теста в радиационных исследованиях для выявления групп повышенного риска, а не для оценки дозы облучения вполне оправдано [10].

Как было показано выше, корреляций между частотой хромосомных нарушений и зарегистрированной дозиметрами дозой облучения в год не обнаружено. Неопределенность в оценке обусловлена, в первую очередь, условиями облучения (величина и мощность дозы, длительность и равномерность воздействия), а также действием различных дополнительных мутагенных факторов нерадиационной природы. Кроме того, наблюдаемый уровень хромосомных аберраций является результатом нескольких независимых процессов: образования хромосомных повреждений под действием радиации, элиминации клеток с нестабильными хромосомными аберрациями и репарации индуцированных радиацией повреждений. Анализ всего спектра полученных данных свидетельствует, что при оценке индивидуальных доз с помощью хромосомных аберраций необходимо учитывать также индивидуальную радиочувствительность.

Литература

- 1 Дубинин Н.П. Радиационный и химический мутагенез. – М.: Наука, 2000. –465 с.
- 2 Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). – М.: Физматлит, 2004. – С. 323 – 325.
- 3 Севанькаев А.В., Деденков А.Н. Актуальные проблемы современной радиобиологии в свете оценки и прогноза последствий аварии на ЧАЭС// Радиобиология. – 1990. - Т. 30.- Вып. 5. – С. 579 – 584.
- 4 Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood // *Experimental Cell Research*. -1960.- V.- 20.- P. 613-616.
- 5 Fenech M., Chang W. P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E. 2003. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures // *Mutat. Res.* – 534. – P. 65–75.
- 6 Губицкая Е.Г., Чердниченко О.Г., Байгушикова Г.М., Ахматуллина Н.Б. Цитогенетический статус жителей Алматинской области // *Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биологическая.*- 2007.- № 2.- С.86-90.
- 7 Ахматуллина Н.Б., Макаренко Н.Г., Чердниченко О.Г., Искадарова К.А., Ким О.Г. Математический

анализ генетических эффектов малых доз ионизирующих излучений // Радиационная биология. Радиоэкология.- 2002.- №6.- С. 612-615.

8 Губицкая Е.Г., Байгушикова Г.М., Авилкина Т.Т. Формирование клеток с микроядрами у людей, подвергавшихся воздействию радиационной компоненты в отдаленном сроке//Мат. Межд. Научно-практ конф. «Актуальные проблемы вирусологии, микробиологии, гигиены. Эпидемиологии и иммунологии». –Алматы, 2012.- С. 171-172.

9 Серебряный А.М., Аклеев А.В., Алещенко А.В., Антошина М.М., Кудряшова О.В. Распределение индивидуумов по спонтанной частоте лимфоцитов с микроядрами, особенности и следствия // Цитология.- 2011. - Т. 53.- № 1.- С. 5-9.

10 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.

References

1 Dubinin N.P. Radiacionnyj i himicheskiy mutagenез. - М.: Nauka, 2000. - 465 s.

2 Kudrjashov Ju.B. Radiacionnaja biofizika (ionizirujushhie izlucheniya). М.: Fizmatlit 2004. S. 323 – 325.

3 Sevan'kaev A.V., Dedenkov A.N. Aktual'nye problemy sovremennoj radiobiologii v svete ocenki i prognoza posledstvij аварии na ChAJeS// Radiobiologija.- 1990. - t.30.- vyp. 5.- S. 579 – 584.

4 Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood // Experimental Cell Research. -1960.- V.- 20.- R. 613-616.

5 Fenech M., Chang W. P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E. 2003. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures // Mutat. Res.- 534. – R.- 65—75.

6 Gubickaja E.G., Cherednichenko O.G., Bajgushikova G.M., Ahmatullina N.B. Citogeneticheskiy status zhitelej Almatinskoj oblasti // Vestnik Kaz. NU im. al'-Farabi. Serija biologicheskaja.- 2007.- № 2.- S.86-90.

7 Ahmatullina N.B., Makarenko N.G., Cherednichenko O.G., Iskadarova K.A., Kim O.G. Matematicheskiy analiz geneticheskikh jeffektov malyh doz ionizirujushhih izlucheniј // Radiacionnaja biologija. Radiojekologija.- 2002.- №6.- S. 612-615.

8 Gubickaja E.G., Bajgushikova G.M., Avilkina T.T. Formirovanie kletok s mikrojadrami u ljudej, podvergavshijsja vozdejstviyu radiacionnoj komponenty v otdalennom sroke//Mat. Mezhd. Nauchno-prakt конф. «Aktual'nye problemy virusologii, mикrобиologii, gигиены. Jеpidemiologii i immunobiologii». -Almaty. 2012.- S. 171-172.

9 Serebrjanyj A.M., Akleev A.V., Aleshhenko A.V., Antoshhina M.M., Kudrjashova O.V. Raspredelenie individuumov po spontannoј chastote limfocitov s mikrojadrami, osobennosti i sledstvija // Citologija.- 2011. - t.- 53.- № 1.- S. 5-9.

10 Sevan'kaev A.V., Moiseenko V.V., Cyb A.F. Vozmozhnosti primenenija metodov biologicheskoj dozimetrii dlja retrospektivnoj ocenki doz v svjazi s posledstvijami аварии na Chernobyl'skoј AJeS. Ocenka doz na osnove analiza nestabil'nyh hromosomnyh aberracij// Radiacionnaja biologija. Radiojekologija. - 1994.- t.34.- vyp. 6.- S. 782 – 792.