

УДК 576.316:616-071-053.9:612.112.:614.876(477.25)

РІВЕНЬ СПОНТАННИХ ТА ІНДУКОВАНИХ *IN VITRO* АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ У ДОВГОЖИТЕЛІВ КИЄВА

О. О. Талан

ДУ “Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України”, м. Київ

Ключові слова: спонтанний рівень аберацій хромосом, довгожителі, опромінення *in vitro*.

Встановлення спонтанної частоти аберацій хромосом в соматичних клітинах людей та визначення їх радіочутливості до дії малих доз радіації є особливо актуальним в умовах зростаючого техногенного навантаження на довкілля. Небезпека радіаційного впливу в малих дозах пов'язана зі збільшенням ризику виникнення онкологічних, спадкових захворювань та прискоренням процесів старіння [1–3]. Накопичення генетичних порушень запускає механізми, що призводять до нестабільності геному, структурних і функціональних змін в клітинах, дегенеративно-дистрофічних порушень тканин і, як наслідок, — до скорочення тривалості життя [4]. Відмічено важливу роль репаративних процесів в клітинах для підтримки стабільності ДНК та можливе зниження їх з віком [5]. Разом з тим, механізми реалізації хромосомної нестабільності при природньому та індукованому радіацією старінні остаточно не з'ясовані. Серед потенційно небезпечних для здоров'я людини спонтанних та радіоіндукованих генетичних пошкоджень найбільш вагомими вважаються структурні перебудови хромосом [4]. При цьому, відомості щодо взаємозв'язку між стабільністю хромосомного апарату соматичних клітин та віком людини лишаються досить суперечливими. Вказане може бути спричинене тим, що більшість досліджень присвячені обстеженню осіб молодшого та середнього віку і не містять повної інформації щодо цитогенетичного статусу та радіочутливості соматичних клітин людини протягом всього життя [6, 7].

Мета роботи — встановлення спонтанного та індукованого опроміненням *in vitro* в малій дозі рівня аберацій хромосом в соматичних клітинах довгожителів.

Матеріал та методи досліджень. Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові, одержані від 6 осіб віком 89–100 років, які постійно проживали в м. Києві та заперечували

свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими відомими чи потенційними мутагенами.

З метою встановлення чутливості осіб цієї вікової категорії до дії радіації кров опромінювали *in vitro* в дозі 0,25 Гр на установці РУМ-17 (фільтри: *Cu* 0,5 мм + *Al* 1 мм, потужність дози 0,415 Гр/хв).

Лімфоцити периферичної крові культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом [8] протягом 48 годин. Для приготування цитогенетичних препаратів використовували диференційне G-зabarвлення метафазних хромосом за методом М. Seabright [9]. Це дозволило виявити весь спектр стабільних та нестабільних аберацій хромосом та коректно встановити їх рівень.

Цитогенетичний аналіз проводили на зашифрованих препаратах під мікроскопом зі збільшенням $\times 1000$. Враховували аберації хроматидного (хроматидні розриви, обміни) і хромосомного (дицентричні й кільцеві хромосоми, транслокації, пара- та перичентричні інверсії, інсерції, термінальні та інтерстиціальні делеції) типів. Під час аналізу реєстрували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з міжнародною номенклатурою ISCN — 2005 [10]. При виконанні роботи проаналізовано 897 неопромінених і 1184 опромінених G-диференційно забарвлених метафаз лімфоцитів периферичної крові.

Статистичну обробку даних проводили з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юdentом — Фішером.

Результати досліджень та їх обговорення. Цитогенетичний аналіз опромінених *in vitro* в дозі 0,25 Гр лімфоцитів периферичної крові довгожителів, показав, що частоти абераційних клітин ($6,42 \pm 0,71$ на 100 метафаз) та аберацій хромосом ($7,01 \pm 0,74$ на 100 метафаз) вірогідно перевищували аналогічні показники контрольних неопромінених культур ($p < 0,05$), які становили $2,56 \pm 0,52$ та $2,78 \pm 0,55$ на 100 метафаз, відпо-

відно (рис. 1). У третини обстежених донорів індивідуальні значення спонтанної частоти аберацій хромосом перевищували 3%. У цих же осіб зареєстровано клітини з двома абераціями хромосом, що вказує на збільшення пошкодженості абераційної клітини з підвищенням віку. При опроміненні *in vitro* в

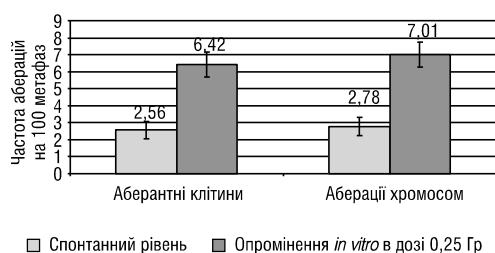


Рис. 1. Рівень спонтанних та радіоіндукованих аберацій хромосом у довгожителів м. Києва

дозі 0,25 Гр частка осіб з двома абераціями хромосом в одній клітині збільшилась вдвічі, порівняно з контролем.

В результаті цитогенетичного аналізу встановили, що спонтанні рівні аберацій хромосом у довгожителів та в осіб віком 28–48 років, обстежених нами раніше [11], достовірно не відрізнялись. Отримані нами результати обстеження довгожителів 89–100 років співставні з дослідженнями Р. Егсег, де показано, що у старших за 90 років осіб частота аберацій хромосом відповідала показнику 45–50 річних обстежених [12]. В роботі [6] не зареєстровано збільшення спонтанного рівня аберацій хромосом зі збільшенням віку людини від 11 до 72 років.

Аналіз спектру зареєстрованих пошкоджень хромосом показав, що частота аберацій хроматидного типу в культурі неопромінених і опромінених лімфоцитів периферичної крові обстежених осіб вірогідно не відрізнялась і становила $1,11 \pm 0,35$ та $1,35 \pm 0,33$ на 100 метафаз відповідно, що складало 40% та 19% від загальної частоти аберацій хромосом. Пошкодження хроматидного типу були представлені лише хроматидними розривами.

Як при спонтанному, так і при радіоіндукованому мутагенезі, в спектрі пошкоджень хромосом переважали аберації хромосомного типу. Вони зустрічались з частотою $1,67 \pm 0,43$ та $5,66 \pm 0,67$ на 100 метафаз, відповідно, що становило 60% і 81% загальної кількості хромосомних порушень.

Серед аберацій хромосомного типу в неопромінених і опромінених клітинах зареєстровано термінальні та інтерстиціальні делеції, транслокації, інверсії, дицентричні і кільцеві хромосоми. Переважну більшість цих пошкоджень у всіх обстежених складали делеції, які зустрічались з частотою: $1,11 \pm 0,35$ та $2,45 \pm 0,45$ на 100 метафаз в неопромінених і опромінених клітинах, відповідно (рис. 2).

Більшість делецій хромосом була представлена термінальними пошкодженнями. Спонтанний рівень симетричних (транслокацій та інверсій) і асиметричних (дицентричних та кільцевих хромосом) хромосомних об-

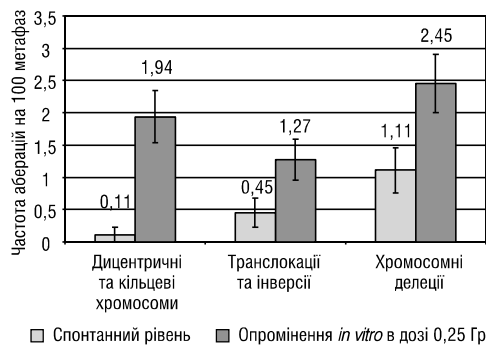


Рис. 2. Рівень спонтанних і радіоіндукованих нестабільних та стабільних аберацій хромосом у довгожителів м. Києва

мінів відповідав популяційній нормі і становив $0,45 \pm 0,22$ та $0,11 \pm 0,11$ на 100 метафаз, відповідно. Опромінення індукувало зростання частоти транслокацій та інверсій до $1,27 \pm 0,32$ на 100 метафаз. Частота нестабільних маркерів опромінення (дицентричних та кільцевих хромосом) статистично достовірно перевищувала спонтанну і становила $1,94 \pm 0,40$ на 100 метафаз. Водночас, слід зазначити, що співвідношення частот симетричних і асиметричних хромосомних обмінів при спонтанному та радіоіндукованому мутагенезі суттєво відрізнялись. Так, в контролі, частота транслокацій і інверсій в 4 рази перевищувала частоту дицентричних та кільцевих хромосом. Опромінення в дозі 0,25 Гр призвело до підвищення рівня дицентричних та кільцевих хромосом, які індукувались майже з однаковою частотою з транслокаціями. Незважаючи на використання різних методів дослідження, видів і доз випромінювання, отримані нами результати обстеження довгожителів співпадають з дослідженнями [4], що були виконані з використанням методу FISH і γ -опромінення крові ^{137}Cs в дозі 1,5 Гр. В роботі цих авторів відмічено зростання частоти транслокацій при природному старінні від 2 до 78 років порівняно з частотою дицентриків. При γ -опроміненні їх крові у високій дозі в умовах *in vitro* рівні транслокацій і дицентриків істотно не розрізнялись між собою.

Висновок. В результаті цитогенетичного обстеження встановлено, що частота аберацій хромосом у осіб віком 89–100 років, які проживали в м. Києві, складала $2,78 \pm 0,55$ на 100 метафаз і відповідала популяційній. Рентгеновське опромінення *in vitro* лімфоцитів крові довгожителів в дозі 0,25 Гр індукувало статистично достовірне зростання рівня аберацій хромосом до $7,01 \pm 0,74$ на 100 метафаз за рахунок аберацій хромосомного типу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Репина, Л. А. Цитогенетические изменения в лимфоцитах крови человека после воздействия ускоренных заряженных частиц *in vitro* в низких дозах / Л. А. Репина // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2006. — Т. 46, № 4. — С. 461–465.
2. Impact of Types of Lymphocyte Chromosomal Aberrations on Human Cancer Risk: Result from Nordic and Italian Cohorts / Lars Hagmar [et al.] // Cancer Res. — 2004. — Vol. 64. — P. 2258–2263.
3. Москалев, А. А. Генетические исследования влияния ионизирующей радиации в малых дозах на продолжительность жизни / А. А. Москалев // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2008. — Т. 48, № 2. — С. 139–145.
4. Воробцова, И. Е. Возрастная динамика частоты спонтанных и индуцированных *in vitro* хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека при естественном и лучевом старении / И. Е. Воробцова, А. В. Семенов // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2010. — Т. 50, № 3. — С. 253–258.

5. Радиочувствительность лимфоцитов периферической крови человека при старении / Г. С. Якупова [и др.] // Материалы VI съезда по радиационным исследованиям, 25–28 октября 2010 г., Москва. — М., 2010. — С. 138
6. Любимова, Н. Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека / Н. Е. Любимова, И. Е. Воробцова // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2007. — Т. 47, № 1. — С. 80–85.
7. Пілінська, М. А. Спонтанний рівень aberrаций хромосом, встановлений в лімфоцитах периферичної крові осіб різного віку за допомогою методу FISH / М. А. Пілінська, С. С. Дибський // Цитологія і генетика. — 2004. — № 4. — С. 62–66.
8. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. — К., 2003. — 23 с.
9. Seabright, M. A. rapid banding technique for human chromosomes / M. Seabright // Lancet. — 1971. — Vol. 2. — P. 971–972.
10. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. — Basel: Karger, 2005. — 130 p.
11. Талан, О. О. Частота aberrаций хромосом у осіб різного віку, які проживають у Києві / О. О. Талан, О. В. Шеметун // Доповіді НАН України — 2010. — № 11. — С. 148–152.
12. Chromosomal changes in ageing / Predrag Erceg, Dragoslav P. Milosevic, Nebojsa Despotovic, Mladen Davidovic // J. Genetics. — 2007. — Vol. 86, № 3. — P. 277–278.

УРОВЕНЬ СПОНТАННЫХ И ИНДУЦИРОВАННЫХ *IN VITRO* АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ КИЕВА

О. А. Талан

ГУ “Национальный Научный центр радиационной медицины
НАМН Украины”, г. Киев

Спонтанный и индуцированный *in vitro* в дозе 0,25 Гр уровень aberrаций хромосом определен в лимфоцитах долгожителей г. Киева. Частота aberrаций хромосом у долгожителей находилась в пределах популяционной. При облучении лимфоцитов периферической крови долгожителей *in vitro* в дозе 0,25 Гр отмечено достоверное повышение уровня aberrаций хромосом за счет aberrаций хромосомного типа.

Ключевые слова: спонтанный уровень aberrаций хромосом, долгожители, облучение *in vitro*.

SPONTANEOUS AND INDUCED *IN VITRO* CHROMOSOME ABERRATIONS LEVEL IN LONG-LIVERS OF KYIV

О. О. Талан

SI “National Research Center for Radiation Medicine
Nationale Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv

Spontaneous and *in vitro* 0.25 Gy radiation induced chromosome aberrations levels in lymphocytes of long-livers Kyiv dwellers were established. The frequency of chromosome aberrations in long-livers were in the background range. Irradiation of peripheral blood lymphocytes in a dose of 0.25 Gy induced a reliable increase of chromosome aberrations of chromosomal type.

Key words: spontaneous level of chromosome aberrations, long-livers, irradiation *in vitro*.