

УДК 575:616-079.7:616-001.28

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ ЕФЕКТ В УЧАСНИКІВ ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ДІЇ РАДІАЦІЇ

О. В. Шеметун

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

Ключові слова: учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, аберації хромосом, радіаційно-індукований ефект свідка.

Згідно з класичною парадигмою радіобіології, пошкоджуюча дія іонізуючого випромінювання на організм людини виникає внаслідок його безпосереднього впливу на ДНК клітин-мішеней [1]. В першому післярадіаційному мітотичному поділі лімфоцитів периферичної крові опромінених осіб вона проявляється підвищенням частоти аберацій хромосомного типу, які є маркерами дії радіації. Разом з тим, як в дослідженнях з опроміненням крові людини в умовах *in vitro* [2, 3], так і в опромінених *in vivo* осіб [4, 5] зареєстровано підвищені рівні аберацій хроматидного типу, що нелогічно з точки зору класичного механізму впливу іонізуючого випромінювання, але може бути пояснено індукцією ефекту свідка (немішеневого ефекту дії радіації) в клітинах, що лишились неопроміненими. Згідно з даними міжнародного наукового проекту “Nontargeted Effects of ionizing radiation” (NOTE), ефект свідка, що індукується при дії іонізуючого випромінювання в умовах *in vivo*, дістав назву bystander-type effect [6]. Припускається, що для нього притаманна генерація опроміненими клітинами у відповідь на первинне радіаційне ушкодження сигнальних молекул і кластогенних факторів (продуктів перекисного окислення ліпідів, цитокінів), які спричиняють вторинні біологічні порушення в неопромінених клітинах організму. Проте, незважаючи на потужний науковий потенціал, задіяний у проекті NOTE, на сьогоднішній день лишається недостатньо вивченим внесок радіаційно-індукованого ефекту свідка в реалізацію порушень здоров’я при опроміненні людини. Існують дані, що маніфестація радіаційно-індукованого ефекту свідка може мати преонкологічний ефект [6, 7], що зумовлює особливу актуальність вивчення його проявів в соматичних клітинах учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС. Крім того, потребує уточнення питання коректності проведення ре-

троспективної біологічної індикації та дозиметрії в опромінених осіб з використанням певних цитогенетичних показників.

Метою представлених досліджень було встановлення цитогенетичного ефекту в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС у віддалені терміни після дії радіації та визначення внеску радіаційно-індукованого ефекту свідка у його формування.

Матеріал і методи дослідження. При виконанні роботи обстежено 22 учасники ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС, які, згідно з офіційними документами, зазнали опромінення в дозах від 0,27 до 0,69 Гр. Дослідження проведено через 19 років після завершення участі обстежених осіб у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС.

Групу порівняння склали 10 умовно здорових осіб відповідного віку, які заперечували свідомий контакт з радіацією та іншими мутагенами, вели здоровий спосіб життя. Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові. Кров культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом [8].

Цитогенетичний аналіз виконували з використанням диференційного GTG-забарвлення метафазних хромосом [8] на зашифрованих препаратах під мікроскопами 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 [9]. Загалом при виконанні роботи проаналізовано 5160 клітин на стадії метафази — 1395 неопромінених клітин для встановлення умовно контрольного рівня аберацій хромосом та 3765 клітин учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, дози опромінення яких склали 0,27–0,69 Гр.

Результати роботи опрацьовано з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юдентом-Фішером.

Результати дослідження та їх обговорення. Цитогенетичний аналіз лімфоцитів периферичної крові учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС показав, що у них у віддалені терміни після дії радіації частота аберантних клітин становила 3,67% і статистично достовірно перевищувала показники неопроміненого контролю ($p < 0,001$) (табл. 1). У 36% обстежених осіб кількість пошкоджень хромосом на аберантну клітину перевищувала 1, внаслідок чого середня частота аберацій складала $3,88 \pm 0,32$ на 100 клітин.

Таблиця 1. Основні цитогенетичні показники лімфоцитів учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, опромінених в дозах 0,27–0,69 Гр, у віддалені терміни після дії радіації

Обстежені групи	Кількість проаналізованих клітин	Частота аберантних клітин, %	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин	
			середня	мінімальна — максимальна
Контроль	1395	1,86±0,36	2,15±0,39	0,80–3,33
Учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС	3765	3,67±0,31	3,88±0,32	2,00–6,00

Зареєстровано значний розкид індивідуальних рівнів аберацій хромосом, що знаходився в межах від 2,00 до 6,00 на 100 клітин.

Аберації хромосомного типу, індукція яких притаманна для дії іонізуючого випромінювання, складала 62% від кількості всіх пошкоджень хромосом (табл. 2). Вони були представлені термінальними та інтерстиціальними делеціями, транслокаціями, інверсіями, дицентриками, центричними хромосомами. Середня частота аберацій хромосомного типу перевищувала відповідний показник у неопромінених осіб ($p < 0,05$).

Делеції хромосом виявлені на рівні $1,17 \pm 0,18$ на 100 клітин, що не мав статистично значимої різниці з контролем ($p > 0,05$). На нашу думку, нормалізація частоти цих пошкоджень у віддалені терміни після їх індукції може бути спричинена меншою життєздатністю клітин з делетованими хромосомами внаслідок нестачі в них генетичного матеріалу.

Частота стабільних маркерів дії радіації в лімфоцитах учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС ($1,01 \pm 0,16$ на 100 метафаз) перевищувала рівень цих пошкоджень в неопромінених клітинах контролю ($p < 0,01$) за рахунок транслокованих хромосом.

Приймаючи до уваги однакову ймовірність індукції асиметричних та симетричних хромосомних обмінів [10] і базуючись на їх рівнях, отриманих при аналізі ($0,24 \pm 0,08$ та $1,01 \pm 0,16$ на 100 клітин відповідно), можна констатувати, що в обстежених учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС відбулась значна елімінація нестабільних маркерів дії радіації за час, що пройшов після опромінення. Середня

Таблиця 2. Частота аберацій хромосомного типу в лімфоцитах учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, опромінених в дозах 0,27–0,69 Гр, у віддалені терміни після дії радіації

Вид аберацій	Частота аберацій, на 100 клітин	
	контроль	учасники ліквідації аварії на ЧАЕС
Аберації хромосомного типу	1,50±0,33	2,42±0,25
делеції	1,00±0,27	1,17±0,18
термінальні	0,93±0,26	0,98±0,16
інтерстиціальні	0,07±0,07	0,19±0,07
стабільні маркери дії радіації	0,36±0,16	1,01±0,16
транслокації	0,22±0,11	0,80±0,14
інверсії	0,14±0,10	0,21±0,08
нестабільні маркери дії радіації	0,14±0,10	0,24±0,08
дицентрики	0,14±0,10	0,16±0,07
кільцеві хромосоми	0,00±0,00	0,08±0,05

частота дицентричних хромосом не мала статистичної різниці з контролем ($p>0,05$) і становила $0,16\pm0,07$ на 100 клітин. Також, в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС зареєстровані кільцеві хромосоми з частотою $0,08\pm0,05$ на 100 клітин.

Рівень аберацій хроматидного типу в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС достовірно перевищував контрольний ($p<0,01$); 95% цих пошкоджень були представлені хроматидними розривами, решта — хроматидними обмінами (табл. 3). Варто зауважити, що індукція аберацій хроматидного типу не притаманна для дії іонізуючого випромінювання в нестимульованих лімфоцитах людини, а є характерною ознакою генетичної нестабільності і радіаційно-індукованого ефекту свідка на цитогенетичному рівні [11, 12].

Беручи до уваги, що при біохімічному обстеженні учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС Л.М. Овсянниковою зі співавторами зареєстровано хронічний оксидативний стрес з накопиченням цитотоксичних продуктів перекисного окислення ліпідів та окислювальною модифікацією білків крові [13], який може бути однією з ланок розвитку ефекту свідка в умовах *in vivo* [6], ми вважаємо, що підвищений рівень

Таблиця 3. Частота аберацій хроматидного типу в лімфоцитах учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, опромінених в дозах 0,27–0,69 Гр, у віддалені терміни після дії радіації

Обстежені групи	Частота аберацій, на 100 клітин		
	хроматидних розривів	хроматидних обмінів	всього
Контроль	0,65±0,21	0,00±0,00	0,65±0,21
Учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС	1,38±0,19	0,08±0,05	1,46±0,20

хроматидних пошкоджень у обстежених осіб спричинений індукцією bystander-type effect. Отримані результати співставні з дослідженнями I. Emerit, яка зареєструвала кластогенну активність плазми персоналу Чорнобильської атомної електростанції через 8 років після аварії, на її думку, зумовлену змінами прооксидантного і антиоксидантного балансу в опромінену організмі [14].

Висновки

1. При цитогенетичному обстеженні учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, які зазнали опромінення в дозах 0,27–0,69 Гр, через 19 років після опромінення встановлено підвищений рівень аберацій хромосом, що становив $3,88 \pm 0,32$ і статистично достовірно перевищував такий в контрольній групі ($p < 0,001$).

2. Підвищення рівня аберацій хромосом в лімфоцитах учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС було спричинено транслокаціями (стабільними маркерами дії радіації), що збереглися в генераціях опромінених клітин-мішеней, та хроматидними розривами (маркерами хромосомної нестабільності), що були індуковані внаслідок ефекту свідка в неопромінених клітинах.

3. В учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС зареєстровано нормалізацію пулу циркулюючих лімфоцитів за делеціями та дисцентричними хромосомами, рівні яких статистично не перевищували контрольних ($p > 0,05$).

4. Отримані при цитогенетичному обстеженні учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС результати вказують на необхідність використання стабільних маркерів дії радіації при проведенні біологічної індикації та дозиметрії у віддалені терміни після опромінення людини та некоректність застосування з цією метою таких показників як “частота абераційних клі-

тин” та “середній рівень аберацій хромосом”, що є завищеними за рахунок маркерів хромосомної нестабільності (аберацій хроматидного типу).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Salomaa, S.* Towards a new paradigm — Introduction to NOTE project (29 june) 2010 [Electronic resource] / S. Salomaa. — Mode of access: <https://www.note-ip.org>.
2. Cytogenetic effects of low-dose radiation with different LET in human peripheral blood lymphocytes [Text] / *E. Nasonova* [et al.] // *Radiat. Environ. Biophys.* — 2006. — Vol. 45. — P. 307–312.
3. Цитогенетичні показники в опроміненних *in vitro* лімфоцитах крові людини при їх окремому культивуванні та у змішаних культурах з неопроміненими лімфоцитами [Текст] / *О. В. Шеметун, О. О. Талан, Т. В. Семіглазова, Д. А. Курінний* // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології: Зб. наук. праць. — К.: ДІА, 2006. — Вип. 12. — С. 160–164.
4. *Шеметун, О. В.* Частота аберацій хромосом у дітей з хронічним тиреоїдитом, народжених до та після аварії на ЧАЕС [Текст] / *О. В. Шеметун, О. О. Талан, М. А. Пілінська* // Цитологія і генетика. — 2004. — Т. 38, № 1. — С. 15–20.
5. *Дибський, С. С.* “Мішеневі” та “немішеневі” цитогенетичні ефекти в соматичних клітинах осіб, які зазнали впливу іонізуючої радіації внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС [Текст]: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.15 / Дибський Сергій Сергійович. — К., 2010. — 39 с.
6. *Wright, E.* Mechanisms of non- targeted effects (14 june) 2010 [Electronic resource] / E. Wright. — Mode of access: https://www.note-ip.org/Meetings_and_events/NOTE_Workshops.
7. *Шеметун, О. В.* Радіаційно-індукований ефект свідка [Текст] / *О. В. Шеметун, М. А. Пілінська* // Цитологія і генетика. — 2007. — Т. 41, № 4. — С. 66–71.
8. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини [Текст]: метод. рек. / КМАПО МОЗ України. — К., 2003. — 23 с.
9. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) [Text] / Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. — Basel: Karger, 2005. — 130 p.
10. Зависимость частоты стабильных и нестабильных аберраций хромосом от дозы облучения лимфоцитов человека *in vitro* [Текст] / *И. Е. Воробцова* [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. — Т. 37, вып. 2. — 1997. — С. 233–239.
11. *Шеметун, О. В.* Дослідження радіаційно-індукованого “ефекту свідка” з використанням моделі з лімфоцитів крові людини при опроміненні *in vitro* / *О. В. Шеметун, О. О. Талан, М. А. Пілінська* // Ж. АМН України. — 2007. — Т. 13, № 3. — С. 592–599.
12. *Шеметун, О. В.* Цитогенетичний ефект в клітинах-свідках при культивуванні з лімфоцитами периферичної крові осіб, які зазнали опромінення *in vivo* [Текст] / *О. В. Шеметун* // Пробл. екол. та мед. генетики і клін. імунології. — 2009. — Вип. 5 (92). — С. 95–102.
13. Состояние окислительных процессов у ликвидаторов в разные периоды после аварии на ЧАЭС [Текст] / *Л. М. Овсянникова* [и др.] // VI съезд по радиационным исследованиям: Тез. докл. — М., 2010. — Т. 1. — С. 118.
14. *Emerit, I.* Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor [Text] / I. Emerit // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* — 1994. — Vol. 120. — P. 558–561.

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ В УЧАСТНИКОВ ЛИКВИДАЦИИ
ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ
ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ**

Е. В. Шеметун

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

Повышенная частота aberrаций хромосом в лимфоцитах крови участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, облученных в дозах 0,27–0,69 Гр, через 19 лет после воздействия радиации формируется за счет транслокаций, сохраняющихся в генерациях облученных клеток-мишеней и хроматидных разрывов, индуцированных в результате эффекта свидетеля в необлученных клетках.

Ключевые слова: участники ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, aberrации хромосом, радиоиндуцированный эффект свидетеля.

**CYTOGENETIC EFFECTS IN CHORNOBYL ACCIDENT
CLEAN-UP WORKERS IN REMOTE TERMS FOLLOWING
RADIATION EXPOSURE**

O. V. Shemetun

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

The elevated chromosome aberrations frequency in blood lymphocytes of Chernobyl accident clean-up workers exposed to ionizing radiation in doses 0.27–0.69 Gy in 19 years following exposure formed due to translocations that were stored in the generation of irradiated target cells, and chromatid breaks induced by bystander-type effect in the untreated bystander cells had been established.

Key words: Chernobyl accident clean-up workers, chromosome aberrations, radioinduced bystander-type effect.