

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК. 612.112.94-576.312.33:616.006

**В. М. Шкарупа, Л. В. Неумержицька, Ю. В. Антоненко,
О. В. Тепла, С. В. Клименко***

*Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини
Національної академії медичних наук України”,
бул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна*

**СОМАТИЧНИЙ ХРОМОСОМНИЙ МУТАГЕНЕЗ
У ХВОРІХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ,
ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ФАКТОРІВ
АВАРІЇ НА ЧАЕС**

Взаємозв'язок між високою частотою аберрацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові та схильністю до захворювання на рак показано для ряду онкологічних захворювань. щодо раку щитоподібної залози нечисленні дані літератури є неоднозначними. Метою дослідження було оцінити можливу хромосомну нестабільність в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак щитоподібної залози, які постраждали внаслідок Чорнобильської аварії. Для досягнення мети обрано метод аналізу хромосомних аберрацій. Середня частота аберрацій хромосом у групі хворих на рак щитоподібної залози, які постраждали внаслідок Чорнобильської аварії, становила $(2,66 \pm 0,33)\%$, порівняно з $(1,47 \pm 0,39)\%$ для контрольної групи (здорові донори). Середня частота аберрацій хромосом у групі хворих на рак щитоподібної залози, які не зазнали впливу факторів Чорнобильської аварії, становила $(2,74 \pm 0,49)\%$. Отримані результати не виявили значущих відмінностей між усіма дослідженими групами. Представлене дослідження є свідченням, що хромосомна нестабільність в лімфоцитах периферичної крові при раку щитоподібної залози не виявляється при використанні класичного цитогенетичного аналізу аберрацій хромосом.

Ключові слова: соматичний хромосомний мутагенез, рак щитоподібної залози, аварія на Чорнобильській АЕС.

Вступ. Ураження щитоподібної залози є одним з найбільш доведених наслідків аварії на ЧАЕС, про що свідчить суттєве зростання захворюваності на тиреоїдну патологію (в т. ч. на рак щитоподібної залози) серед осіб, особливо дитячого та юнацького віку, які зазнали дії чинників аварії. Генетичний апарат клітини є ключовою мішенню дії випромінення. В свою чергу, гормони щитоподібної залози відіграють

* Клименко Сергій Вікторович, e-mail: klymenko_sergiy@yahoo.co.uk
© Шкарупа В. М., Неумержицька Л. В., Антоненко Ю. В., Тепла О. В., Клименко С. В., 2012

значну роль у забезпеченні цілісності генетичного апарату, а гормональний дисбаланс, обумовлений радіаційно-індукованою тиреоїдною патологією, може сприяти підвищенню інтенсивності спонтанного та індукованого мутаційного процесу. У зв'язку з цим, цитогенетична індикація ступеня променевого ураження організму, виявлення хромосомної нестабільності в соматичних клітинах хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ), які зазнали впливу факторів аварії на ЧАЕС, може вказувати на радіогенний характер цієї патології. Нечисленні дані літератури щодо рівня хромосомних пошкоджень в культурі лімфоцитів периферичної крові осіб, хворих на РЩЗ, в тому числі тих, які зазнали впливу радіаційних факторів, неоднозначні.

Мета роботи полягала в оцінці імовірної хромосомної нестабільності в лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ, які постраждали внаслідок Чорнобильської аварії. Для цього було необхідне порівняння рівнів спонтанного соматичного хромосомного мутагенезу у хворих на РЩЗ, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, хворих на РЩЗ, які не зазнавали впливу факторів аварії на ЧАЕС, та здорових осіб, які заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими відомими мутагенними факторами.

Матеріал та методи дослідження. Проведено цитогенетичне обстеження 13 осіб-добровольців, які зазнали впливу факторів аварії на ЧАЕС (учасники ліквідації наслідків аварії, евакуйовані таті, хто проживає на територіях радіологічного контролю) і захворіли на РЩЗ (віком від 21 до 64 років, середній вік 44 роки), 5 осіб, які не зазнавали впливу факторів аварії на ЧАЕС і захворіли на РЩЗ (віком від 32 до 52 років, середній вік 45 років), та 7 здорових осіб (віком від 26 до 63 років, середній вік 46 років), які заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими відомими мутагенними факторами. Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові, одержані від вказаних осіб, які культивували за загально-прийнятим напівмікрометодом [1]. Для приготування цитогенетичних препаратів використовували рівномірне забарвлення метафазних хромосом. Статистичний аналіз проводили у відповідності з критерієм χ^2 .

Результати та їх обговорення. Результати цитогенетичного аналізу представлені в табл. 1. Встановлено, що середньогрупова частота лімфоцитів з абераціями хромосом у групі хворих на РЩЗ, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, становила $(2,36 \pm 0,32)\%$ при частоті аберацій хромосом — $(2,66 \pm 0,33)$ аберацій на 100 проаналізованих клітин. Отримані дані не перевищують значення верхньої межі середньопопу-

Таблиця 1. Середньогрупові цитогенетичні показники

Група цитогенетичного обстеження	Кількість проаналізованих клітин	Частота аберантних метафаз, %	Кількість абераций/ 100 метафаз
Здорові донори (n=7)	951	1,47±0,39*	1,47±0,39*
Хворі на РШЗ, які не зазнали впливу факторів аварії на ЧАЕС (n=5)	1096	2,37±0,46*	2,74±0,49*
Хворі на РШЗ, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС (n=13)	2330	2,36±0,32*	2,66±0,33*

Примітка. * — $p > 0,05$, порівняно з іншими групами

ляційного спонтанного рівня абераций в культурі лімфоцитів людини, а також вірогідно не відрізняються від аналогічних показників контрольної групи (здорові донори) — (1,47±0,39)% та (1,47±0,39) абераций на 100 проаналізованих клітин, відповідно. Середньогрупова частота лімфоцитів з абераціями хромосом у групі хворих на РШЗ, які не зазнали впливу іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС, становила (2,37±0,46)% при частоті аберацій хромосом — (2,74±0,49) абераций на 100 проаналізованих клітин, що також статистично достовірно не відрізняється від аналогічних показників в інших дослідженіх групах.

Щодо особливостей розподілу осіб за частотою аберацій хромосом слід зазначити, що в культурах лімфоцитів усіх досліджених здорових осіб частота аберацій не перевищувала 3%. Проте, в обох групах хворих на РШЗ — як у тих, хто не зазнав впливу факторів Чорнобильської аварії, так і у постраждалих внаслідок аварії, значну частку становили особи, частота аберацій в культурах лімфоцитів яких перевищувала 3% (60% та 31% відповідно). При цьому, якщо у жодного з хворих на РШЗ першої групи частота аберацій в культурі лімфоцитів не перевищувала 5%, то в групі постраждалих були виявлені особи, частота аберацій хромосом в культурі лімфоцитів яких була більшою, ніж 5% та 6%. Проте, вказані відмінності мали недостатній рівень статистичної значущості. Ймовірно, для адекватного висновку щодо статистичної значущості виявлених відмінностей потрібна більша за чисельністю вибірка досліджених осіб, що і планується провести в подальшому.

Порівнюючи отримані результати з даними літератури слід зазнати, що хоча цитогенетичні дослідження хромосомної нестабільності при РШЗ проводяться досить інтенсивно, кількість робіт з визначення

частоти абераций хромосом в лімфоцитах периферичної крові хворих на різні види цієї патології не є вельми чисельною. Це може бути обумовлено, зокрема, складністю формування вибірки дослідження, оскільки злюякісні пухлини щитоподібної залози складають лише від 1 до 2% випадків злюякісних новоутворень. Проведений аналіз даних літератури вказує на неоднозначність зв'язку між частотою абераций хромосом в лімфоцитах периферичної крові та захворюванням на РЩЗ. Так, за даними Gil та співавторів [2], при цитогенетичному дослідженні 22 хворих на РЩЗ не виявлено вірогідних відмінностей в частоті абераций хромосом, порівняно з контрольною групою. Середня частота аберантних клітин в цих групах становила $(1,68 \pm 1,39)\%$ та $(2,2 \pm 1,87)\%$ відповідно. Як видно з табл. 1, отримані дані подібні до результатів в нашій роботі. Слід зазначити, що у одного з пацієнтів, хворих на РЩЗ, при вищевказаному дослідженні частота абераций хромосом становила 23 аберації / 100 метафаз — за рахунок наявності мультиаберантних клітин (у осіб контрольної групи таких клітин не виявлено). Частота аберантних клітин у цієї особи становила 5%. За даними інших авторів, цитогенетичне дослідження 20 хворих на РЩЗ, які проживали на території Закарпатської, Івано-Франківської та Чернівецької областей, також не виявило вірогідного збільшення рівня хромосомного мутагенезу в культурі лімфоцитів периферичної крові, порівняно з середньопопуляційним [3]. Середньогрупова частота аберантних клітин у цих осіб становила $(2,1 \pm 0,7)\%$, середньогруповий показник частоти абераций хромосом — $(2,4 \pm 0,6)$ аберацій / 100 метафаз. За даними Le Coniat та співавторів [4], не було виявлено ознак хромосомної нестабільності в культурі лімфоцитів 32 пацієнтів з РЩЗ.

Проте, існують повідомлення і про підвищений, іноді досить істотно, рівень абераций хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові хворих на РЩЗ. Pathak та співавтори виявили збільшений рівень хромосомної нестабільності у пацієнта з гіперкальціємією та РЩЗ [5]. За результатами досліджень Hsu та співавторів [6], виявлено значне перевищення рівня абераций хромосом в культурі лімфоцитів 19 хворих на РЩЗ. Середньогрупова частота аберантних лімфоцитів становила 10,6%. При цьому привертає увагу досить високий рівень спонтанного хромосомного мутагенезу в культурі лімфоцитів здорових осіб контрольної групи в цьому дослідженні, середнє значення якого становило 3,8% аберантних клітин. Слід також зазначити, що 14 пацієнтів дослідженії групи мали діагноз медулярна карцинома щитоподібної залози, який складає лише від 5 до 10% всіх форм РЩЗ [11]. За результатами досліджень Tanaka та співавторів, середня частота аберантних клітин

в культурі лімфоцитів 6 хворих на РІЦЗ становила 16,6% [7]. Хоча в цій роботі всі хворі, у яких було проведено цитогенетичне дослідження, також мали діагноз медуллярна карцинома щитоподібної залози. Враховуючи вищевказане, не виключено, що при різних формах РІЦЗ можливий різний рівень дестабілізації геному лімфоцитів периферичної крові. Аналіз даних літератури дозволяє вважати, що саме у хворих на медуллярний РІЦЗ частіше спостерігається підвищений рівень аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові.

Щодо зв'язку ризику виникнення радіогенного РІЦЗ з частотою аберацій хромосом в лімфоцитах, слід вказати на роботи Е. А. Дьоміної та співавторів [3, 8], які провели цитогенетичне дослідження хворих на РІЦЗ з відносно “чистих” щодо радіаційного забруднення районів України та тих, які мешкають на територіях України з підвищеною щільністю радіоактивного забруднення (Олевський, Коростишівський, Бердичівський райони Житомирської області). Встановлено, що середньогрупова частота лімфоцитів з абераціями хромосом у групі хворих, які мешкають на радіаційно забруднених територіях, складала ($5,1 \pm 0,4$)% (проаналізовано 2150 метафаз), що суттєво перевищує значення верхньої межі спонтанного рівня абераций. Частота абераций хромосом при цьому становила ($6,0 \pm 0,3$) абераций / 100 метафаз. Середньогрупова частота хромосомних фрагментів складала 2,3 аберації на 100 метафаз, а діцентриків і аномальних моноцентриків — 1,0 та 0,7 аберації на 100 метафаз відповідно. Тобто, підвищення частоти аберацій хромосом в лімфоцитах хворих на РІЦЗ із радіоактивно забруднених територій, порівняно з хворими з “радіоактивно чистих” територій відбувалось переважно за рахунок хромосомних фрагментів. Реєстрація в спектрі хромосомних пошкоджень специфічних маркерів радіаційного впливу (діцентрики, аномальні моноцентрики) за думкою автора свідчить про реалізацію променевих ефектів на хромосомному рівні основних клітин імунної системи осіб, які зазнали впливу факторів аварії на Чорнобильській АЕС, і, таким чином, про радіогенний характер захворювання. Таким чином, вказані дані відрізняються від результатів, отриманих в нашій роботі. Результати аналізу отриманих результатів та даних літератури щодо особливостей хромосомної нестабільності в лімфоцитах хворих на РІЦЗ, зокрема у постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС, свідчать також про необхідність подальших, більш детальних досліджень в цьому напрямку. На нашу думку, бажано враховувати не тільки такі показники, як частота абераций хромосом і частота аберантних клітин, але й інші критерії, які є в арсеналі класичного цитогенетичного аналізу. Зокрема, такі як функціональна здатність лімфоцитів до активації

мітогеном, асоціації акроцентричних хромосом, особливості поклітинного розподілу аберрацій, їх статистичний аналіз тощо.

Висновок. Не виявлено значущих відмінностей рівнів спонтанного соматичного хромосомного мутагенезу за критеріями частоти аберрацій хромосом та частоти аберантних клітин в лімфоцитах периферичної крові у хворих на РІЦЗ, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, хворих на РІЦЗ, які не зазнали впливу факторів аварії на ЧАЕС, та здорових осіб, які заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими відомими мутагенними факторами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини : метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. — К. : [б. в.], 2003. — 23 с.
2. No evidence of increased chromosomal aberrations and micronuclei in lymphocytes from non-familial thyroid cancer patients prior to radiotherapy / O. M. Gil, N. G. Oliveira, A. S. Rodrigues [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet. — 2000. — Vol. 123, N 1. — P. 55–60.
3. Оцінка лестабілізації геному соматичних клітин онкологічних хворих за цитогенетичними та біохімічними показниками / Е. А. Дъюміна, О. М. Дружина, Н. М. Рябченко [та ін.] // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології : зб. наук. праць. — К. : ДІА, 2006. — Вип. 12. — С. 167–173.
4. Cytogenetic studies on patients with medullary carcinoma of the thyroid / M. Le Coniat, D. Vecchione, A. Pacot [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet. — 1987. — Vol. 25. — P. 303–307.
5. Cytogenetic abnormalities in a patient with hypercalcemia and papillary thyroid carcinoma / S. Pathak, T. C. Hsu, N. Samaan, R. C. Hickey // Hum. Genet. — 1982. — Vol. 60. — P. 291–293.
6. Chromosome instability in patients with medullary carcinoma of the thyroid / T. C. Hsu, S. Pathak, N. Samaan, R. C. Hickey // JAMA — 1981. — Vol. 246. — P. 2046–2048.
7. Tanaka K. Transmissible genes induced chromosome-type aberrations in the lymphocytes of multiple endocrine neoplasia type 1 and type 2A (MEN1 and MEN2A) patients / K. Tanaka, K. Arita, S. Nishimura // Indian J. Sci. Tech. — 2010. — Vol. 3, N 1. — P. 982–989.
8. Дъюміна Е. А. Цитогенетичні ефекти в соматичних клітинах хворих на рак щитоподібної залози / Е. А. Дъюміна // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 52–59.

Стаття надійшла до редакції 3.07.2012.

В. М. Шкарупа, Л. В. Неумержицкая, Ю. В. Антоненко, О. В. Теплая, С. В. Клименко
Государственное учреждение “Национальный научный центр радиационной
медицины Национальной академии медицинских наук Украины”,
ул. Мельникова, 53, г. Киев, 04050, Украина

СОМАТИЧЕСКИЙ ХРОМОСОМНЫЙ МУТАГЕНЕЗ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ФАКТОРОВ АВАРИИ НА ЧАЭС

Взаимосвязь между высокой частотой аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови и предрасположенностью к раку показана для ряда онкологических

заболеваний. Немногочисленные данные в отношении рака щитовидной железы неоднозначны. Целью исследования было оценить возможную хромосомную нестабильность в лимфоцитах периферической крови больных раком щитовидной железы, которые пострадали вследствие Чернобыльской аварии. Для этого был выбран метод анализа хромосомных aberrаций. Средняя частота aberrаций хромосом в группе больных раком щитовидной железы, которые пострадали вследствие Чернобыльской аварии, составляла $(2,66 \pm 0,33)\%$, в сравнении с $(1,47 \pm 0,39)\%$ в контрольной группе (здоровые доноры). Средняя частота aberrаций хромосом в группе больных раком щитовидной железы, которые не пострадали вследствие Чернобыльской аварии составляла $(2,74 \pm 0,49)\%$. Полученные результаты не выявили достоверных отличий между всеми исследованными группами. Представленное исследование является свидетельством того, что хромосомная нестабильность в периферических лимфоцитах при раке щитовидной железы не выявляется при использовании классического цитогенетического анализа aberrаций хромосом.

Ключевые слова: соматический хромосомный мутагенез, рак щитовидной железы, Чернобыльская авария.

V. M. Shkarupa, L. V. Neumerzickaya, Yu. V. Antonenko,
O. V. Tepla, S. V. Klymenko

State Institution "National Research Center for Radiation Medicine
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine",
Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

SOMATIC CHROMOSOMAL MUTAGENESIS FROM PATIENTS WITH THYROID CANCER, SUFFERED DUE TO THE CHORNOBYL ACCIDENT

The relationship between the presence of high frequencies of chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes and predisposition to cancer has been suggested for some cancer diseases. In thyroid cancer, the few reports available are equivocal. The aim of this study was to assess the possible chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes from patients with thyroid cancer, suffered due to the Chornobyl accident. For this purpose the chromosomal aberrations assay was applied. The frequency of chromosomal aberrations was $2,66 \pm 0,33$ (mean value SE) for the patients group with thyroid cancer, suffered due to the Chornobyl accident versus $1,47 \pm 0,39$ in the control group (healthy donors). The frequency of chromosomal aberrations was $2,74 \pm 0,49$ for the patients group with thyroid cancer, which has not been suffered due to the Chornobyl accident. The results obtained revealed no significant differences between all investigated groups. The present study supports the assumption that chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes is not visible in thyroid carcinomas using classic cytogenetic chromosomal aberrations assay.

Key words: somatic chromosome mutagenesis, thyroid cancer, Chornobyl accident.