

Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови больных хронической лучевой болезнью через 25-30 лет после прекращения контакта с радиационным фактором

Окладникова Н.Д.

Проведено цитогенетическое обследование 273 больных хронической лучевой болезнью (ХЛБ), вызванной преимущественно общим внешним облучением через 25-30 лет после прекращения контакта с профессиональным радиационным фактором. Структурные нарушения хромосомного типа выявлены в 81,7% случаев, частота которых значительно превышает уровень спонтанных aberrаций. При внешнем облучении в диапазоне суммарных доз γ -излучения 100-600 рад (1,0-6,0 Гр) не выявлено дозовой зависимости частоты хромосомных aberrаций. Хромосомные изменения в динамике за 10-12-летний период наблюдения оценены у 97 человек. Отмечено нарастание количества хромосомных aberrаций преимущественно стабильного типа у больных ХЛБ, являющихся "носителями" ^{239}Pu .

Chromosomal aberrations in lymphocytes of peripheral blood of patients with chronic radiation sickness in 25-30 years after termination of contact with radiation factor

Okladnikova N.D.

Cytogenetic study of 273 patients with chronic radiation sickness caused mainly by total external radiation in 25-30 years after termination of occupational contact with radiation factor was carried out. Structural damages of chromosomal type were detected in 81.7% of cases, rate of the damages considerably exceeded the baseline level of spontaneous aberrations. At the level of integrated doses from gamma-radiation of 100-600 rad (1.0-6.0 Gy) relationship between dose and the rate of chromosomal aberrations was not found. Chromosomal changes for 10-12 years of follow-up were dynamically estimated in 97 individuals. Increase in the number of chromosomal aberrations (mainly of stable type) was detected in patients with chronic radiation sickness who were "carriers" of ^{239}Pu .

Изучению состояния хромосомного аппарата соматических клеток при действии различных мутагенов на человека уделяется большое внимание, так как используемый для этих целей метод культуры лейкоцитов периферической крови позволяет оценить состояние генома лимфоцитов - иммунокомпетентных клеток - важного звена иммунологического статуса организма. Экспериментальные и некоторые клинические данные свидетельствуют о том, что в разные сроки после острого и хронического облучения в соматических клетках выявляются повреждения генетических структур [1-4 и др.]. Ранее нами был обследован контингент больных ХЛБ через 15 лет после прекращения контакта с радиационным фактором и показано, что уровень хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови значительно превышал уровень спонтанных aberrаций; имелась определенная зависимость частоты aberr-

рантных клеток от суммарной дозы внешнего излучения [5]. Настоящая работа является продолжением начатых ранее исследований и имеет целью оценить динамику цитогенетических изменений за весь период наблюдения и состояние хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови больных ХЛБ в наиболее отдаленном периоде ее течения, когда сроки после прекращения контакта с радиационным фактором значительно возросли и достигли 25-30 лет. Аналогичных клинических данных в литературе нет.

Материалы и методы исследования

Хромосомные изменения в культуре лимфоцитов периферической крови изучены у 273 больных ХЛБ (163 мужчины и 110 женщин). Большинство больных (89%) были в возрасте 47-59 лет, который, как свидетельствуют литературные дан-

ные [6], существенно не влияет на частоту хромосомных aberrаций. Из 273 человек у 30 ХЛБ была вызвана внешним общим облучением, у 243 человек - сочетанным радиационным воздействием (внешнее γ -излучение и внутреннее облучение от инкорпорированного ^{239}Pu). При внешнем облучении суммарные дозы γ -излучения составили 100,0-900,0 рад (1,0-9,0 Гр). Среди лиц, подвергавшихся сочетанному радиационному воздействию, в 50% случаев в период цитогенетического обследования содержание радионуклида в организме не превышало 0,02 мкКи (0,74 кБк). При анализе цитогенетических данных учитывалось возможное воздействие на хромосомы кроме профессионального радиационного фактора медицинских рентгенодиагностических процедур, перенесенной вирусной инфекции, злоупотребления этанолом в ближайшие дни перед цитогенетическим исследованием. При наличии указанных факторов цитогенетические данные исключались из разработки. Одновременно с результатами хромосомного исследования оценивались в условиях стационара основные синдромы ХЛБ, уточнялась диагностика имевшихся у большинства больных других соматических заболеваний.

Для изучения хромосомных aberrаций использован общепринятый метод культуры лимфоцитов периферической крови [7]. Клетки культивировали 48-54 ч. В каждом случае анализировали по 100 метафазных пластинок: определяли количество хромосом в пластинке, структурные нарушения хромосомного и хроматидного типов; при этом отдельно учитывали пробелы. В качестве контроля использовали данные хромосомного обследования практически здоровых лиц (50 человек) соответствующего возраста, не имевших профессионального контакта с радиационным фактором.

Данные хромосомного исследования обработаны статистически. Определяли достоверность различий при количественном и альтернативном варьировании с помощью метода Стьюдента (t). Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В культуре лимфоцитов периферической крови больных ХЛБ, как и у лиц контрольной группы, редко встречались анеуплоидные клетки (преимущественно гиподиплоидные). Количество их не превышало 1-2%. Не обнаружено существенных различий между группами и по частоте клеток с хроматидными aberrациями (таблица). Пробелы выявлялись одинаково часто у больных ХЛБ и лиц контрольной группы. Структурные нарушения хромосомного типа имелись у 5 из 50 человек кон-

трольной группы (10,0%). Среди больных ХЛБ aberrации этого типа обнаружены в 81,7% случаев. Частота клеток с aberrациями хромосомного типа была значительно выше у больных ХЛБ по сравнению с контролем (2,11 и 0,1% соответственно, $p < 0,001$). Более половины aberrаций в обеих группах составляли нестабильные нарушения (80,0 и 58,2% от всех aberrаций хромосомного типа у лиц контрольной группы и больных ХЛБ соответственно). Однако у лиц контрольной группы не обнаружено дицентрических и кольцевых хромосом, тогда как у больных ХЛБ в культуре лимфоцитов периферической крови до 30% aberrантных клеток содержали дицентрики, единичные - трицентрики, до 10% - кольцевые хромосомы. Почти половина дицентрических и кольцевых хромосом (от 40,0 до 52,0%) имели сопутствующие ацентрические фрагменты. Ни в одном случае из 273 больных ХЛБ не выявлено клонов патологических клеток.

Для выявления зависимости частоты хромосомных aberrаций от величины радиационного воздействия проанализированы уровни aberrаций при следующих диапазонах доз γ -излучения: менее 200 рад ($< 2,0$ Гр), 200-400 рад (2,0-4,0 Гр), 400-600 рад (4,0-6,0 Гр) и более 600 рад ($> 6,0$ Гр) - см. таблицу. В связи с тем, что ранее при обследовании работников, контактировавших по характеру своей профессиональной деятельности с различными соединениями ^{239}Pu , но не имевших клинических синдромов профессионального заболевания, была выявлена определенная зависимость частоты хромосомных aberrаций от уровня депонирования радионуклида в организме [8], результаты обследования больных ХЛБ приведены в каждой дозовой подгруппе дифференцированно для больных ХЛБ, имевших контакт только с γ -излучением, и лиц, подвергавшихся сочетанному радиационному воздействию. Частота aberrаций хроматидного и хромосомного типов у больных ХЛБ с уровнем инкорпорации ^{239}Pu 0,02 мкКи (0,774 кБк) и менее существенно не отличалась от частоты этих нарушений у больных ХЛБ, подвергавшихся только внешнему общему облучению. Статистически значимое нарастание уровня структурных нарушений хромосомного типа обнаружено у лиц с количеством инкорпорированного ^{239}Pu 0,030 мкКи (1,11 кБк) и выше (см. таблицу). При внешнем облучении в изученном диапазоне доз через 25-30 лет после прекращения контакта с радиационным фактором у обследованной группы больных ХЛБ не выявлено четкой зависимости частоты хромосомных aberrаций от суммарной дозы излучения, хотя сохраняется некоторая тенденция к снижению уровня их у лиц, облученных в максимальных дозах.

При клиническом обследовании у 91 больного ХЛБ (33,3%) выявлены умеренные изменения в периферической крови (лейкопения и нейтропения), у 6 человек - синдром очаговой гипоплазии костного мозга по данным миелограммы и трепанобиопсии подвздошной кости. Хромосомное исследование лимфоцитов у этих больных не выявило каких-либо количественных или качественных различий по сравнению с больными ХЛБ, не имевшими гематологических синдромов.

нобиопсии подвздошной кости. Хромосомное исследование лимфоцитов у этих больных не выявило каких-либо количественных или качественных различий по сравнению с больными ХЛБ, не имевшими гематологических синдромов.

Таблица

Хромосомные изменения в культуре лимфоцитов периферической крови больных ХЛБ и лиц контрольной группы

Доза излучения, Гр	Подгруппа по характеру воздействия	Число обследованных	Количество метафаз	Частота клеток с хроматидными aberrациями, %	Частота клеток с хромосомными aberrациями, %
<2,0	Внешнее облучение	14	1400	2,14±0,78	1,36±0,31*
	Сочетанное (всего)	66	6600	1,54±0,16	2,12±0,26*
	< 1,1 кБк	35	3500	1,26±0,20	1,49±0,16*
	≥ 1,1 кБк	31	3100	1,84±0,26	2,84±0,44**
2,0-4,0	Внешнее облучение	14	1400	0,79±0,16	1,43±0,24*
	Сочетанное (всего)	104	10400	1,10±0,16	2,25±0,18*
	< 1,1 кБк	70	7000	1,23±0,20	1,80±0,13*
	≥ 1,1 кБк	34	3400	1,06±0,08	3,18±0,37**
4,0-6,0	Внешнее облучение	2	200	1,50	2,00±1,26*
	Сочетанное (всего)	47	4700	1,45±0,16	2,57±0,30*
	< 1,1 кБк	23	2300	1,35±0,27	2,43±0,49*
	≥ 1,1 кБк	24	2400	1,54±0,16	2,71±0,26*
>6,0	Сочетанное (всего)	26	2600	1,85±0,25	1,65±0,30*
	< 1,1 кБк	15	1500	1,67±0,37	1,47±0,22*
	≥ 1,1 кБк	11	1100	2,09±0,48	1,91±0,57*
-	Больные ХЛБ (суммарно)	273	27300	1,40±0,11	2,11±0,11*
-	Контрольная группа	50	5000	1,54±0,13	0,10

* Значимые различия с контролем.

** Различия с группой лиц, у которых уровень депонирования радионуклида менее 1,1 кБк; и с подгруппой, подвергавшейся внешнему облучению.

Представляло интерес оценить динамику хромосомных изменений за длительный период наблюдения у одних и тех же больных ХЛБ. В течение 10-12 лет у 97 больных проведено от 2 до 5 кариологических исследований. Для анализа использовали результаты первого и последнего (через 10-12 лет), названного условно вторым, исследований. При втором исследовании не выявлено статистически значимых различий по уровню анеуплоидии и частоте клеток с aberrациями хроматидного типа, в то же время отмечено некоторое нарастание количества структурных нарушений хромосомного типа: 2,09 и 2,76 aberrаций на 100 клеток при первом и втором исследовании соответственно ($p<0,05$). Это нарастание произошло преимущественно за счет стабильных хромосомных нарушений (перцентрические инверсии, симметричные межхромосомные обмены) у больных ХЛБ, являющихся «носителями» ^{239}Pu : 0,69 и 1,11 aberrаций стабильного типа на 100 клеток при первом и втором исследованиях соответст-

венно ($p<0,05$). У лиц, имевших контакт только с γ -излучением, не отмечено увеличения количества хромосомных aberrаций при втором исследовании (1,12 и 1,0 соответственно, $p>0,05$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что у больных ХЛБ через 25-30 лет после прекращения профессионального контакта с радиационным фактором в лимфоцитах периферической крови сохраняются структурные повреждения генома в виде aberrаций хромосомного типа, частота которых значительно превышает уровень спонтанных aberrаций. Отсутствие четкой зависимости от дозы γ -излучения можно объяснить дополнительным вкладом повреждений в случаях продолжающегося внутреннего облучения от инкорпорированного ^{239}Pu . Имеющиеся литературные данные о цитогенетических эффектах длительного терапевтического облучения или профессионального облучения в малых дозах ограничены значительно меньшими сроками наблюдения и трудно сопоставимы. Показано, что в от-

даленные сроки после облучения в миелокариоцитах крыс сохраняются хромосомные аберрации стабильного типа, появляются маркерные хромосомы [2]. Результаты цитогенетического обследования небольшой группы австралийцев (17 человек), подвергшихся в результате атомной бомбардировки Нагасаки общему облучению в пределах 50 рад (0,5 Гр), показали, что даже через 30 лет у части лиц выявляются структурные повреждения хромосом [3]. Некоторые авторы [9] констатируют сохранение дозовой зависимости частоты аберраций в диапазоне 1-500 рад (0,01-5,0 Гр) и выше у японцев, переживших атомную бомбардировку, также спустя 25 лет и более. Все эти данные свидетельствуют о том, что в гетерогенной популяции лимфоцитов периферической крови определенная доля клеток несет радиационно-индуцированные повреждения в геноме, реализуемые при фитогемагглютинин-стимуляции *in vitro*. Инкорпорированный ^{239}Pu является дополнительным фактором, не только поддерживающим мутагенез, но и способствующим увеличению выхода хромосомных аберраций благодаря нарастанию поглощенной дозы в лимфоузлах легочной системы, а также костном мозге. Некоторое увеличение количества аберраций при динамическом исследовании выявлено у «носителей» радионуклида, т.е. того контингента лиц, который имеет повышенную заболеваемость злокачественными опухолями и в первую очередь раком легкого [10]. Этот факт представляется нам чрезвычайно важным и обосновывает необходимость систематического цитогенетического наблюдения за «носителями» ^{239}Pu и проведения клинко-цитогенетических сопоставлений для оценки частоты хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови как возможного теста максимально раннего выявления лиц с опухолями легких до их клинко-рентгенологических проявлений.

Выводы

1. У больных хронической лучевой болезнью через 25-30 лет после прекращения профессионального контакта с радиационным фактором со-

храняются повреждения в геноме лимфоцитов периферической крови в виде хромосомных аберраций нестабильного и стабильного типов. Частота хромосомных аберраций значительно превышает уровень спонтанных аберраций.

2. При динамическом цитогенетическом исследовании (10-12 лет) отмечено нарастание количества хромосомных аберраций преимущественно стабильного типа у больных хронической лучевой болезнью, являющихся «носителями» ^{239}Pu .

Литература

1. **Пяткин Е.К., Баранов А.Е., Покровская В.Н.** Аберрации хромосом нестабильного типа в стимулированных ФГА культурах костного мозга человека в отдаленные сроки после тотального облучения: доказательство неравномерности облучения кроветворной ткани. - Терапевт. архив, 1977, 49, № 8, с. 101-105.
2. **Николаевская Н.Г., Муксимова К.Н.** Структурные изменения хромосом миелокариоцитов в отдаленные сроки после облучения у леченных ДНК крыс. - Радиобиология, 1977, 22, вып. 4, с. 572-576.
3. **Awa A.A., Sofuni T., Honda T.** Relationship between the radiation dose and chromosome aberrations in atomic bomb survivors of Nagasaki and Hiroshima. - J. Radiat. Res., 1978, 19, N 2, p. 126-140.
4. **Juliani G., Isoardi Pons A., Ligabue Stricker F.** Aberrazioni cromosomi nei soggetti professionalmente radioesposti. Analisi statistica. - Radiol. Med., 1979, 65, N 7/8, p. 541-550.
5. **Окладникова Н.Д.** Состояние хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови у больных в отдаленные сроки хронической лучевой болезни. - Бюл. радиац. мед., 1969, № 3, с. 32-39.
6. **Бочков Н.П.** Хромосомы человека и облучение. М.: Атомиздат, 1971. 168 с.
7. **Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.I. et al.** Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. - Exp. Cell Res., 1960, 20, p. 613.
8. **Окладникова Н.Д.** Хромосомные изменения в культуре лейкоцитов периферической крови человека при комбинированном радиационном воздействии. - Бюл. радиац. мед., 1976, № 1, с. 64-69.
9. **Chee C.A.K., Ilbery P.L.T.** Cytogenetic findings 30 years after low level exposure to the Nagasaki atomic bomb. - J. Radiat. Res., 1977, 17, N 2, p. 132-138.
10. **Мороз Г.С.** Злокачественные новообразования у лиц, подвергавшихся профессиональному облучению: Дис. докт. мед. наук. М., 1975. 348 с.