

РАЗДЕЛ 3

НАУЧНЫЕ СТАТЬИ

ИЗ ИСТОРИИ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ
РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ

"Бюллетень радиационной медицины", 1972 год, № 2, стр. 86-91.

Изучение хромосом в лейкоцитах культуры периферической крови подростков, подвергавшихся облучению в антенатальном периоде развития

Окладникова Н.Д.

Проведено цитогенетическое исследование 54 подростков в возрасте 14-16 лет, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию в антенатальном периоде развития. Суммарная доза внешнего облучения составила 7,5-150 р. Доза от инкорпорированных изотопов в организме матери не превышала ПДУ. В соматических клетках (лейкоциты культуры периферической крови) выявлены определенные нарушения хромосомного аппарата: повышение уровня структурных нарушений как хромосомного, так и хроматидного типа, увеличение числа клеток с эндоредупликацией хромосом, тенденция к гипердиплоидии. Частота структурных нарушений хромосомного типа у антенатально облученных подростков в 4 раза превышает спонтанный уровень.

Study of chromosomes in leukocytes of peripheral blood culture of adolescents exposed to radiation in antenatal period

Okladnikova N.D.

A cytogenetic study was conducted for 54 adolescents at the age of 14-16 years exposed to chronic radiation in the antenatal development period. Their total external radiation dose ranged from 7.5 to 150 R. The dose from incorporated isotopes in mother's body was below the maximum permissible level. Some chromosome aberrations were found in somatic cells (leukocytes of peripheral blood culture): an increased level of structural disruptions of both chromosome and chromatid type, an increased number of cells with endoreduplication of chromosomes and a tendency for hyperdiploidy. The frequency of chromosome aberrations in the antenatally exposed adolescents exceeded the spontaneous level by a factor of 4.

Риск антенатального облучения (генетические эффекты, развитие злокачественных новообразований) может быть оценен лишь при всестороннем клиническом обследовании не только в период новорожденности, но и в отдаленные сроки. Большой практический и теоретический интерес представляет оценка состояния хромосомного аппарата половых и соматических клеток.

Так, А.Д.Блум с соавторами [1] отмечали, что у антенатально облученных детей (облученные матери были в первом триместре беременности и находились в 1400 м от гипоцентра взрыва в период атомной бомбардировки в Хиросиме и Нагаса-

ки) в клетках культуры лейкоцитов периферической крови частота клеток с хромосомными aberrациями почти в 4 раза превышает контрольный уровень (0,15 и 0,04% соответственно). По данным Р.Миллер [2], у лиц, подвергавшихся антенатальному облучению, в 39% случаев обнаруживаются нарушения генетических структур хромосомного типа.

Мы наблюдали 54 подростка в возрасте 14-16 лет, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию в антенатальном периоде развития.

Суммарная доза внешнего облучения за антенатальный период развития* составила 7,5-150 р. Доза от инкорпорированных изотопов в организме матери не превышала ПДУ.

Контрольную группу составили 22 подростка соответствующего возраста, не подвергавшиеся другому радиационному воздействию, кроме диагностического рентгеновского облучения (рентгеноскопия грудной клетки).

При оценке клинического статуса более чем у половины подростков (65%) основной и контрольной групп выявлены сопутствующие заболевания: хронический холецистит и гастрит в фазе ремиссии, хронический ринофарингит и компенсированный тонзиллит, симптомы вегетативно-сосудистой дистонии. Клинических проявлений острого заболевания вирусной этиологии в момент обследования не имел ни один подросток.

Для цитогенетического исследования использован метод 3-суточной культуры лейкоцитов периферической крови (П.С.Мурхед и др., 1960).

Хромосомные препараты готовили общепринятым методом. В каждом случае считали, как правило, не менее 100 метафазных пластинок. Хромосомы анализировали согласно Денверской системе классификации хромосом человека, учитывая их количество в метафазной пластинке, структурные нарушения хромосомного и хроматидного типа, характер и уровень полиплоидии.

В 3-суточной культуре лейкоцитов периферической крови подростков контрольной группы модальными были клетки с 46 хромосомами. Процент их варьировал в пределах 97,0-100,0, составив в среднем 98,99 (табл. 1). Анеуплоидные клетки имели преимущественно гиподиплоидный хромосомный набор. Потерянные хромосомы относились к группам E, F, C-X, D, G-Y. Гипердиплоидные метафазные пластинки встречались значительно реже, чем гиподиплоидные (в среднем 0,09%). Приобретенными были хромосомы малых и средних размеров (G-Y, C-X и E).

Таблица 1

Цитогенетические изменения в клетках культуры лейкоцитов периферической крови подростков основной (54 человека) и контрольной (22 человека) групп

Показатели	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Всего проанализировано метафаз	5569	2160	
Процент эуплоидных клеток	93,0-100,0 (98,54)	97,0-100,0 (98,99)	$p>0,05$
Процент анеуплоидных клеток	0,0-7,0 (1,46)	0,0-3,0 (1,01)	$p>0,05$
в том числе гипердиплоидных	0,0-1,0 (0,29)	0,0-1,0 (0,09)	$0,01<p<0,05$
Количество полиплоидных клеток (‰)	0,0-5,0 (0,97)	0,0-6,1 (1,38)	$0,01<p<0,05$
в том числе клеток с эндоредупликацией хромосом	0,0-2,5 (0,15)	0,0-1,5 (0,03)	$0,01<p<0,05$
Процент клеток с хроматидными абберациями	0,0-9,0 (2,8)	0,0-8,0 (1,62)	$0,005<p<0,01$
Процент клеток с абберациями хромосомного типа	0,0-2,0 (0,38)	0,0-1,0 (0,09)	$0,005<p<0,05$

Примечание. Здесь и в таблице 2 в скобках даны средние значения.

Количество клеток с полиплоидным набором хромосом колебалось в пределах 0,0-6,1‰ (в среднем 1,38‰). Все полиплоидные клетки имели набор хромосом не более тетраплоидного. Встречались единичные клетки с эндоредупликацией хромосом (0,03‰).

Структурные нарушения были представлены в основном хроматидными абберациями: гемами и хроматидными делециями с расположением фрагмента поблизости от места разрыва. Клетки с хроматидными абберациями составляли 1,62%.

* За величину суммарной дозы антенатального облучения принимали дозу внешнего облучения, полученную матерью с момента зачатия ребенка (по сроку последней менструации) до прекращения контакта с ионизирующим излучением. С этой целью были проанализированы данные индивидуального фотоконтроля матерей по месяцам.

Абберации хромосомного типа обнаружены в культуре лейкоцитов периферической крови двух подростков (9,1% случаев) - свободно лежащие парные фрагменты с частотой 1,0%. Средняя частота клеток с абберациями хромосомного типа в контрольной группе 0,09%.

Модальную линию в основной группе, как и в контрольной, составляли метафазные пластинки с числом хромосом 46 (98,54%). Анеуплоидные клетки встречались несколько чаще (1,46%), чем в контроле, но выявленное различие статистически незначимо ($p>0,05$). Основную часть анеуплоидных клеток также составляли гипердиплоидные метафазные пластинки с числом хромосом не менее 44. Потерянными были хромосомы из групп E, F, C-X, D, G-Y. Выявлена тенденция к увеличению числа гипердиплоидных клеток (0,09 и 0,29% в контрольной и основной группах соответственно). Все гипердиплоидные метафазные пластинки

имели набор хромосом не более 47. Приобретенные хромосомы относились к группам G-Y, C-X и E.

Уровень полиплоидии в культуре лейкоцитов периферической крови подростков основной группы несколько ниже контрольного (0,97 и 1,38% соответственно). Но у подростков основной группы чаще (0,15%) обнаруживались метафазные пластинки с эндоредупликацией хромосом по сравнению с контролем (0,03%).

Структурные нарушения были представлены aberrациями хроматидного и хромосомного типов. Число клеток с хроматидными aberrациями варьировало в пределах 0,0-9,0%, составив в среднем 2,8% (0,01 < p < 0,05). Доминировали, как и в контроле, ахроматические перерывы - гены. Пятую часть хроматидных aberrаций, как и в контроле, составляли хроматидные делеции. Единичными были изохроматидные разрывы, не обнаруженные в культурах лейкоцитов периферической крови подростков контрольной группы.

Структурные нарушения хромосомного типа

обнаружены у 17 подростков основной группы, т.е. в 31,5% случаев, в контроле - 9,1%. В каждом случае клетки с aberrациями хромосомного типа составляли не более 1%, лишь у одного подростка они составили 2%. Средняя частота клеток с aberrациями хромосомного типа 0,38%. Различия между основной и контрольной группами статистически значимы (p < 0,05).

Имелись следующие виды aberrаций: свободные лежащие парные фрагменты - 7, разрывы хромосом по центромере - 7, интерстициальные делеции - 4, реципрокные транслокации - 2, дицентрическая хромосома - 1.

Суммарная доза антенатального облучения значительно варьировала (7,5-150 p). Для решения вопроса о возможной дозовой зависимости частоты хромосомных изменений основную группу разделили на 2 подгруппы: I - 22 подростка с суммарной дозой антенатального облучения 7,5-30 p; II - 32 подростка - 30,1-150 p.

Данные цитогенетического исследования по подгруппам представлены в таблице 2.

Таблица 2

Цитогенетические изменения в клетках культуры лейкоцитов периферической крови подростков основной группы с учетом суммарной дозы антенатального облучения

Показатели	Суммарная доза облучения ребенка за антенатальный период, p	
	7,5-30,0 (I подгруппа)	30,1-150,0 (II подгруппа)
Всего проанализировано метафаз	2200	3369
Процент эуплоидных клеток	98,32 (93,0-100,0)	98,69 (97,0-100,0)
Процент анеуплоидных клеток	1,68 (0,0-7,0)	1,31 (0,0-3,0)
в том числе гипердиплоидных	0,45 (0,0-1,0)	0,18 (0,0-1,0) 0,01 < p < 0,05
Количество полиплоидных клеток, ‰	0,35 (0,0-1,0)	1,12 (0,0-5,0) 0,001 < p < 0,005
в том числе клеток с эндоредупликацией хромосом	-	0,15 (0,0-2,5)
Процент клеток с aberrациями хроматидного типа	3,05 (0,0-9,0)	2,64 (0,0-6,0)
Процент клеток с aberrациями хромосомного типа	0,55 (0,0-2,0)	0,27 (0,0-1,0) 0,01 < p < 0,05

По уровню анеуплоидии не выявлено статистически значимых различий между двумя подгруппами, но гипердиплоидные клетки чаще встречались в культуре лейкоцитов периферической крови подростков I подгруппы. В этой же подгруппе довольно низок уровень полиплоидии по сравнению с контрольной группой и со II подгруппой. Кроме того, при подсчете 20 тыс. митозов ни одной метафазной пластинки с эндоредупликацией хромосом не обнаружено.

По частоте клеток со структурными нарушениями хроматидного типа различий между двумя подгруппами не выявлено.

Структурные нарушения хромосомного типа обнаружены у 10 человек I подгруппы (45,5%) и 7 человек II подгруппы (21,9%), а метафазные пластинки с хромосомными aberrациями составили 0,55 и 0,24% соответственно от общего числа проанализированных. Выявленные различия статистически значимы (0,01 < p < 0,05).

Таким образом, у подростков 14-16 лет, подвергшихся в антенатальном периоде развития внешнему облучению в суммарной дозе 7,5-150,0 p, в соматических клетках (лейкоциты культуры периферической крови) выявлены определенные нарушения хромосомного аппарата: повышение уровня структурных нарушений как хромосомного, так и хроматидного типа, увеличение

числа клеток с эндоредупликацией хромосом, тенденция к гипердиплоидии. Частота структурных нарушений хромосомного типа у антенатально облученных подростков в 4 раза превышает спонтанный уровень.

Литературные сведения о цитогенетических эффектах антенатального облучения малочисленны [1, 2] и касаются не хронического радиационного воздействия, а острого антенатального облучения в период атомной бомбардировки в Хиросиме и Нагасаки (доза облучения, как правило, более 100 р). Различия по характеру и уровню радиационного воздействия не позволяет сравнивать литературные данные с изложенными в настоящей работе результатами. Выявленные нами цитогенетические нарушения в клетках культуры периферической крови антенатально облученных подростков небольшие, но значимы при статистической обработке материала. Часть сдвигов можно рассматривать как результат нарушений в митотическом цикле клеток: увеличение числа клеток с эндоредупликацией хромосом, снижение уровня полиплоидии, тенденция к гипердиплоидии.

Увеличение числа клеток с эндоредупликацией хромосом после облучения показано исследованиями *in vitro* и *in vivo* [3-5]. В наших исследованиях повышение частоты клеток с эндоредупликацией хромосом в культуре лейкоцитов периферической крови было обнаружено у больных с хронической лучевой болезнью в отдаленные сроки после прекращения контакта с радиацией и у пациентов в отдаленные сроки острого внешнего γ -нейтронного облучения [6, 7]. Вероятно, эндоредупликации - торможение митоза на стадии формирования веретена - имеют связь с облучением, которому подвергались обследованные подростки.

Небольшое снижение уровня полиплоидии отмечено при дозе антенатального облучения до 30 р. Известно, что полиплоидные клетки появляются в культуре лейкоцитов и их количество увеличивается в процессе культивирования. В трехсубкультуре лейкоцитов периферической крови большинство клеток находится во втором митозе, и часть вступает в третий митоз [8, 9]. Уменьшение частоты полиплоидных клеток в культуре лейкоцитов периферической крови подростков основной группы может быть обусловлено тем, что за 72-часовой период культивирования из-за изменения продолжительности отдельных фаз митотического цикла число клеток, успевающих вступить во 2-й и 3-й митозы, меньше, чем в контрольных культурах. Это предположение в определенной мере подтверждается и отсутствием клеток с эн-

доредупликацией хромосом в I подгруппе (частота эндоредупликаций коррелирует с количеством полиплоидных клеток [10]). Выявленные небольшие нарушения в митотическом цикле клеток могли быть индуцированы облучением в антенатальном периоде развития и сохраняться в поколениях клеток.

Характер структурных нарушений хромосом (хроматидные аберрации, возникающие, как правило, в культуре или под действием механических факторов в процессе приготовления хромосомных препаратов, а также нестабильные хромосомные аберрации) позволяет расценивать их как проявление повышенной ломкости генетических структур, возможно, реализации радиационно индуцированных латентных нарушений, сохраняемых в поколениях клеток.

Реализации латентных хромосомных повреждений мог способствовать такой неспецифический фактор, как изменение условий в процессе культивирования изучаемых клеток.

Как количественные хромосомные изменения, так и структурные нарушения чаще обнаруживались при малой дозе антенатального облучения (до 30 р). По-видимому, при более высоких дозах индуцировались более грубые структурные повреждения и клетки с такими аберрациями элиминировались в процессе последующих клеточных делений.

Цитогенетические изменения в соматических клетках антенатально облученных подростков, возможно, сочетаются с нарушениями в геноме и половых клетках, что создает необходимость дальнейшего наблюдения за данным контингентом в генетическом аспекте.

Литература

1. Bloom A.D., Neriishi Sh., Kamado N., Jscski T. In Human Rad. Cytogenetics, Amsterdam, 1967, p. 136.
2. Miller R.W. Science, 1969, 166, 3905, p. 569.
3. Ohnuki I., Awa A., Pomerat C.M. Ann. New York Acad. Sci., 1961, 95, p. 862.
4. Bell A.G. Science, 1964, 143, p. 139.
5. Friedman B.I., Saenger E.L., Kleindler M.S. Lancet, 1964, 2, 7358, p. 494.
6. Окладникова Н.Д. Бюллетень радиационной медицины, 1969, №3. стр. 32.
7. Окладникова Н.Д. Генетика, 1970, VI, № 2, стр. 152.
8. Bender M.A., Prescott D.M. Exptl. Cell Res., 1962, 27, p. 221.
9. Sasaki M.S., Norman A. Nature, 1966, 210, p. 913.
10. Nasjleti C.E., Walden I.M., Spencer H.H. New England, J. Med., 1965, 272, p. 250.