

## Хромосомные нарушения у жителей самбургской тундры в условиях экологического неблагополучия

А. В. ПОНОМАРЁВА, В. Г. МАТВЕЕВА, Л. П. ОСИПОВА, О. Л. ПОСУХ

*Институт цитологии и генетики СО РАН  
630090 Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 10*

### АННОТАЦИЯ

В связи с предполагаемым влиянием ядерного полигона Северный (о-в Новая Земля), а также с возросшим уровнем как общей, так и онкологической заболеваемости тундровых ненцев Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО) проведено цитогенетическое исследование в этой группе жителей. Средняя частота хромосомных aberrаций (3,18 %) и частота маркерных для действия ионизирующей радиации колец и дицентриков (0,42 %) достоверно ( $p < 0,001$ ) превышают контрольный уровень. В группе детей, родившихся после 1980 г., когда ядерные испытания уже были прекращены, также выявлен достоверно ( $p < 0,001$ ) повышенный уровень средней частоты хромосомных aberrаций (2,34 %). В группе пришлого европеоидного населения, проживающего в данном регионе более 20 лет, наблюдается сходная картина по указанным критериям: 2,8 и 0,43 % соответственно ( $p < 0,001$ ).

### ВВЕДЕНИЕ

Промышленное освоение Севера подвергает высокоширотные районы Западной Сибири мощному воздействию негативных техногенных факторов, в том числе и возможному влиянию последствий испытаний ядерных устройств на полигоне Северный. В условиях экологического неблагополучия оказываются малочисленные коренные народности Севера, что ставит под угрозу их существование.

В настоящее время хорошо изучена с генетико-демографических и популяционно-генетических позиций группа тундровых ненцев [1, 2], что позволяет планомерно проводить медико-генетические и семейные исследования. Популяция тундровых ненцев пос. Самбург и прилегающей тундры (Пуровский р-н ЯНАО) имеет сравнительно небольшую численность (около 2000 чел.), ведет преимущественно кочевой образ жизни и расселена на площади около 100 000 км<sup>2</sup>. Основу хозяйствования тундровых ненцев составляют оленеводство, рыбная ловля, охота. В связи с этим относительно про-

сты пищевые цепи: ягель–олень–человек; вода–рыба–человек.

Основанием для проведения цитогенетических исследований в популяции тундровых ненцев стала информация о том, что в регионе резко увеличилась как общая заболеваемость населения, так и смертность от онкологических заболеваний, ранее несвойственных коренным жителям Севера. К тому же Пуровский р-н располагается сравнительно недалеко от о-ва Новая Земля, где с 1955 по 1962 г. проведено 79 воздушных ядерных взрывов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 1994–1998 гг. собрано 276 образцов крови у жителей пос. Самбург и пос. Тарко-Сале Пуровского р-на. В 30 образцах не произошло стимулирования лимфоцитов к делению. Таким образом, всего было обследовано 246 чел.

Материалом для хромосомного анализа служили лимфоциты периферической крови, стимулированные к делению фитогемагглюти-

нином. Кровь забирали в количестве 7–10 мм<sup>3</sup> из вены стерильно в пробирки с 0,4 мл гепарина (разведение 1 : 10) и в течение 3–4 сут доставляли в лабораторию г. Новосибирска. Культивирование лимфоцитов проводилось общепринятым макрометодом [3–5] в нашей интерпретации. Фиксацию культур проводили на 48-м часе культивирования (первое клеточное деление), так как во втором клеточном делении происходит частичная элиминация клеток с aberrантными хромосомами (дицентриками, ацентрическими кольцами и фрагментами) [6]. В подавляющем большинстве случаев у каждого человека анализировали в среднем 100 метафаз рутинной окраски. Учитывали весь спектр структурных aberrаций хроматидного и хромосомного типов, принятый в качестве критериев оценки мутагенного воздействия [7]. Так называемые "гэпы" и анеуплоидные клетки не учитывали. На дифференциально окрашенных препаратах идентифицировали характер повреждений хромосом и выявляли мутации отдельных кариотипов [8].

Так как тотальный анализ проводился на рутинно окрашенных препаратах, то невозможно было достоверно выявить все стабильные хромосомные перестройки (транслокации, инверсии). Учет такого рода aberrаций, несомненно, очень важен, поскольку эти перестройки не элиминируются со временем и могут передаваться в ряду поколений. Для выявления таких aberrаций требуется более трудоемкий анализ G-окрашенных препаратов, либо современные FISH методы [9]. В перспективе планируется исследовать эффективность выявления всего спектра aberrаций на GTG-препаратах выборочно у лиц с высоким и низким уровнями хромосомных нарушений.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время выполнен ряд работ по хромосомному анализу лимфоцитов крови у людей, проживающих в зонах радиационного загрязнения или непосредственно подвергавшихся радиационному воздействию при ядерных испытаниях на Семипалатинском полигоне [10], а также при аварии на Чернобыльской АЭС [11, 12]. В этих работах показано достоверное увеличение по сравнению с контролем

как общего числа хромосомных aberrаций (ХА), так и специфических маркеров радиационного воздействия – колец и дицентриков. В нашей работе мы также выделяем эти хромосомные перестройки как маркерные для действия радиации.

Поскольку экологическая обстановка севера Сибири мало изучена, сложно выбрать экологически чистый район и контрольную группу людей для сопоставления с полученными данными. Поэтому сравнение результатов проводили с общемировыми литературными данными, согласно которым, в зависимости от экологической обстановки и природного радиационного фона, общая частота ХА колеблется в среднем от 0 до 1,5 % [13–16], а частота маркерных aberrаций (колец и дицентриков) – в пределах 0,05–0,21 % и для России составляет в среднем 0,1 % [11].

На основании этнической принадлежности вся выборка обследованных лиц разделена на две группы: коренных жителей – преимущественно тундровых ненцев (N = 171) и пришлое европеоидное население – русских, украинцев и пр. (N = 75). Выборка пришлого населения представлена людьми, срок проживания которых на Севере (в основном на территории Пуровского р-на) составляет не менее 20 лет. В группе коренных жителей абсолютное большинство обследованных лиц родилось и постоянно проживает в этом регионе. Из группы коренных жителей выделена группа детей (N = 57), родившихся в 1980 г. и позже, для того чтобы оценить частоту ХА у коренных жителей, заведомо не подвергшихся воздействию ядерных испытаний.

Как видно из диаграмм (рис. 1), у жителей самбургской тундры выявлена существенная отягощенность лимфоцитов хромосомными aberrациями.

В общей выборке коренных жителей только 38 % людей имеют уровень ХА, не превышающий контроль. В выборке пришлого европеоидного населения наблюдается сходная картина: лишь 30,7 % лиц имеют нормальные показатели. При рассмотрении только взрослой части коренного населения показатели ухудшаются: всего 23,7 % людей имеют уровень ХА, не превышающий контрольный уровень. Несколько лучше ситуация в группе детей, где две трети вы-

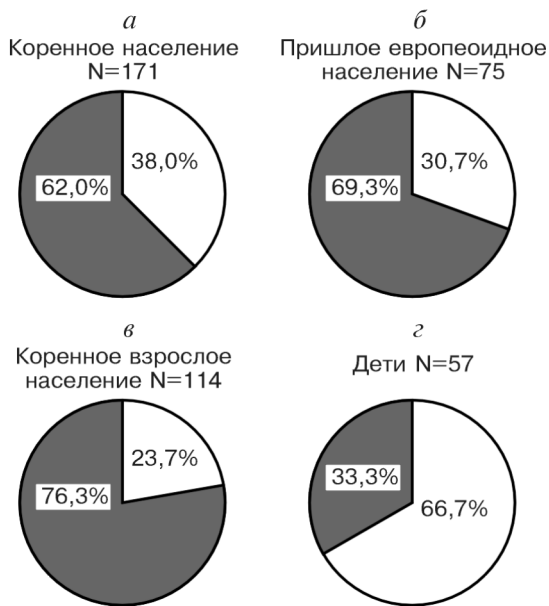


Рис. 1. Распределение обследованных лиц в выборках в зависимости от общей частоты ХА. Темным цветом показана доля индивидуумов, имеющих уровень ХА, превышающий контрольный (1,5 %).

борки имеют нормальные показатели. Более детальные сведения о результатах цитогенетического анализа представлены в таблице.

В группе детей (N = 57) общая частота ХА составляет 2,34 %, что достоверно ( $p < 0,001$ ) превышает контрольный уровень. Частота ра-

диационных маркеров, которая составляет 0,19 %, превышает контроль недостоверно ( $p > 0,05$ ). Всего кольца и дицентрики обнаружены у 19 % выборки детей.

Подобные цитогенетические исследования проводились у детей с множественными пороками развития (МПР) и атипичной желтухой новорожденных (АЖ), проживающих, как и их родители, в Алтайском крае вблизи Семипалатинского ядерного полигона. Показано, что частота ХА у детей с МПР и АЖ составляет 2,8 и 2,7 % соответственно, причем до 40 % всех aberrаций были хромосомного типа (разрывы, обмены, кольца) [10]. Таким образом, у детей Самбурга уровень хромосомной нестабильности сходен с таковым у детей с МПР и АЖ, живущих в зоне радиационного загрязнения на Алтае.

Полученные данные могут указывать как на вероятность передачи в ряду поколений генетической нестабильности, так и на то, что в настоящее время существуют крайне неблагоприятные экологические факторы, влияющие на хромосомный аппарат клетки, тем более что в Пуровском р-не выявлено повышенное содержание  $^{137}\text{Cs}$  в почвах (в среднем 143,9 Бк/кг), в ягеле (149,6 Бк/кг) и в оленьем мясе (от 48 до 262 Бк/кг), которым преимущественно питаются тундровые ненцы [17, 18]. Очевидно, инкор-

**Результаты цитогенетических исследований жителей Пуровского р-на ЯНАО.**  
**Во всех группах данные достоверно ( $p < 0,001$ ) превышают контрольные уровни, кроме \* ( $p > 0,05$ )**

| Выборка                           | N   | Число метафаз | %                              |                                  |
|-----------------------------------|-----|---------------|--------------------------------|----------------------------------|
|                                   |     |               | Общее число aberrантных клеток | Клетки с кольцами и дицентриками |
| Всего                             | 246 | 26808         | 821<br>3,06<br>(2,9–3,3)       | 113<br>0,42<br>(0,35–0,50)       |
| Коренные жители                   | 171 | 18436         | 587<br>3,18<br>(2,9–3,4)       | 77<br>0,42<br>(0,35–0,52)        |
| Пришлое европейское население     | 75  | 8372          | 234<br>2,8<br>(2,4–3,1)        | 36<br>0,43<br>(0,30–0,57)        |
| Дети, рожденные в 1980 г. и позже | 57  | 6196          | 145<br>2,34<br>(1,9–2,7)       | 12<br>*0,19<br>(0,10–0,31)       |
| Коренное взрослое население       | 114 | 12240         | 442<br>3,61<br>(3,3–3,9)       | 65<br>0,53<br>(0,41–0,67)        |

Примечание. В скобках – доверительный интервал.

порированный радиоцезий, мигрируя по пищевой цепи ягель–олень–человек, является постоянным источником малых доз радиации для коренного населения данного региона.

Все изученные выборки разделены на три группы в зависимости от общей частоты хромосомных aberrаций для сопоставления результатов исследования коренного и пришлого населения по уровню ХА и характеру их проявления (рис. 2).

I – лица с "контрольным" уровнем ХА ( $ХА \leq 1,5\%$ );

II – лица с умеренным увеличением числа ХА ( $1,5\% < ХА \leq 3\%$ );

III – лица с высоким уровнем ХА ( $ХА > 3\%$ ).

В группе коренных жителей только 38 % имеют нормальный уровень ХА, у 26 % обследованных лиц наблюдается умеренное увеличение частоты ХА, а у 36 % – уровень ХА, как минимум, в 2 раза превышает контрольный. Кроме того, число лиц с радиационными маркерами в группе I составляет 9 %, в группе II – 36 и в группе III – 49 % от числа людей в каждой группе соответственно. Таким образом, у коренных жителей можно отметить тенденцию к увеличению числа радиационных маркеров в группе лиц, наиболее отягощенных хромосомными aberrациями.

В выборке пришлого населения распределение обследованных лиц следующее, %: в группе I – 31, в группе II – 41, в группе III – 28. Следует отметить, что у пришлого населения несколько иная по сравнению с коренными жителями картина в распределении радиационных маркеров. Доля лиц, имеющих радиационные маркеры, наибольшая (48 %) в группе II с умеренным уровнем ХА; в группе I эта доля составляет всего 4 % и в группе III – 43 %.

При сравнении выборок взрослого коренного населения и детей прослеживаются прямо противоположные тенденции в распределении числа лиц по группам. У взрослых минимальное число людей (24 %) в группе с нормальными показателями и максимальное (47 %) – в группе с высоким уровнем ХА, а у детей максимальное число лиц (67 %) имеют нормальные показатели и всего 14 % составляют группу III.

Следует отметить, что 11 % образцов крови, взятых в исследование, вообще не дали роста

культуры. Вполне возможно, что в данном случае это свидетельство так называемой "иммунной депрессии" клеток, так как среди этой группы лиц особенно высока доля людей с вторичными иммунодефицитными состояниями.

В целом, проведенные исследования показали достоверное ( $p < 0,001$ ) превышение частоты хромосомных aberrаций как у коренного, так и у пришлого населения Пуровского р-на. Кроме того, частоты радиационных маркеров в этих группах более чем в 4 раза превышают принятую норму.

На основании полученных данных мы можем предположить, что и взрослая часть корен-

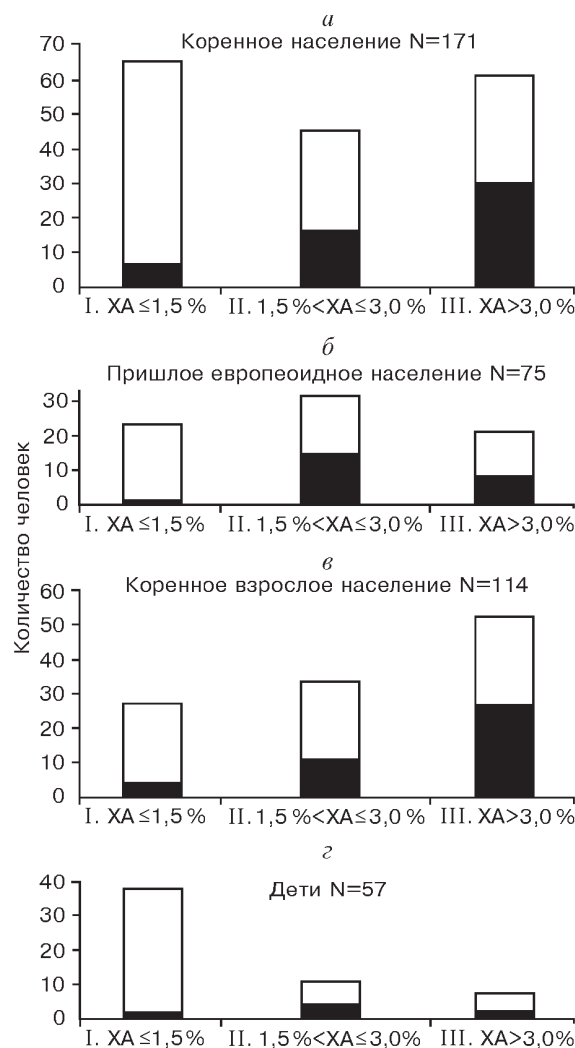


Рис. 2. Распределение выборки коренных жителей в зависимости от общей частоты хромосомных aberrаций. Темным цветом показана доля индивидуумов, имеющих кольца и дигенетрики.

ного населения, и дети, и представители пришлое европейского населения в настоящее время подвергаются хроническому воздействию малых доз радиации (что согласуется с данными по радиоцезию [17, 18]).

Для решения вопроса о возможной передаче хромосомной нестабильности в ряду поколений необходим более подробный мониторинг в группе детей самбургской тундры.

Работа выполнена в рамках Интеграционного проекта СО РАН (1997–1998 гг.) и при финансовой поддержке администрации Пуровского р-на ЯНАО.

Авторы выражают благодарность д-ру биол. наук А. С. Графодатскому, канд. биол. наук О. В. Саблиной и П. Л. Перельман за помощь в обработке материала.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Л. П. Осипова, О. Л. Посух, Е. А. Ивакин и др. *Генетика*, 1996, **32**: 6, 830–836.
2. О. Л. Посух, Л. П. Осипова, Ю. А. Крюков, Е. А. Ивакин, Там же, 822–829.
3. Н. П. Бочков, Ю. С. Демин, Н. В. Лучник, Там же, 1972, **8**: 5, 133–141.
4. А. С. Графодатский, С. И. Раджабли, Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих. Атлас, Новосибирск, Наука, Сиб. отд-ние, 1988, 10–15.
5. P. S. Moorhead, P. C. Nowell, W. J. Mellman, *Exp. Cell Res.*, 1960, 20, 613–616.
6. Ф. Фогель, А. Мотульски, Генетика человека, М., Мир, 1990, 2.
7. S. Cao, Z. Deng, Z. Zhen, et al., *Health Phys.*, 1981, 41, 586.
8. M. Seabright, *Lancet*, 1971, 2, 971–972.
9. М. А. Пилинская, Е. В. Шеметун, А. М. Шеметун, *Цитология и генетика*, 1995, **29**: 5, 3–11.
10. В. Г. Матвеева, О. В. Саблина, В. Р. Еремина и др., Генетические эффекты антропогенных факторов среды, Новосибирск, 1993, 1, 5–17.
11. Н. П. Бочков, *Вестник РАМН*, 1993, 6, 51–55.
12. М. А. Пилинская, А. М. Шеметун, С. С. Дыбский и др., *Радиобиология*, 1992, 32, 632–639.
13. J. Poul-Ruling, *Adv. Mutat. Res.*, 1990, 2, 155–190.
14. Н. П. Бочков, Хромосомы и облучение, М., Наука, 1971, 154.
15. Н. П. Бочков, Н. П. Кулешов, В. С. Журков, Генетические последствия загрязнения окружающей среды, М., Наука, 1977.
16. А. Ф. Захаров, В. А. Бенюш, Н. П. Кулешов, Л. И. Барановская, Хромосомы человека, М., Медицина, 1982, 195–197.
17. Л. П. Осипова, О. Л. Посух, В. Г. Матвеева и др., Интеграционные программы фундаментальных исследований, Новосибирск, 1998, 327–342.
18. Л. П. Осипова, О. Л. Посух, Б. Л. Щербов и др., Сборник статей специализированного семинара "Радиационная ситуация и здоровье населения в Урало-Сибирском регионе: прошедшие десятилетия и взгляд в будущее", Новосибирск, 1998.

## Chromosome Aberrations in Samburg Tundra Inhabitants under Ecological Hazard conditions

A. V. PONOMAREVA, V. G. MATVEEVA, L. P. OSIPOVA, O. L. POSUKH

In connection with the hypothetical influence of the Severnyi nuclear testing ground (Novaya Zemlya island), and because of the increasing level of both total and oncological morbidity among Tundra Nenetz of the Yamal-Nenetz autonomous district, a cytogenetic study was carried out on this population. The mean chromosome aberration rate (3.18 %) and the frequency of rings and dicentrics (0.42 %) that are markers of the effect of ionizing radiation) exceed significantly ( $p < 0.001$ ) the control level. In a group of children born after 1980 when nuclear tests had already been ceased, a significantly ( $p < 0.001$ ) heightened level of the mean chromosome aberration frequency (2.34 %) was also found. In a group of caucasian migrants that have lived in the research location for over 20 years, a similar pattern of the above criteria is observed: 2.8 and 0.43 % respectively ( $p < 0.001$ ).