

## **Исследование цитогенетических нарушений у жителей Алтая в зонах радиационного загрязнения**

А. В. ПОНОМАРЁВА, В. Г. МАТВЕЕВА

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

### **АННОТАЦИЯ**

Исследовали хромосомные нарушения у жителей Тальменского и Локтевского р-нов Алтайского края. Считается, что эти районы находились в зоне радиационного загрязнения при испытании ядерного оружия на Семипалатинском полигоне. При обследовании групп детей с атипичной желтухой, с множественными пороками развития, их родственников, а также группы шахтеров пос. Горняк наблюдалась картина хромосомной нестабильности в этих выборках. В обоих районах обнаружена повышенная по сравнению с контрольной как общая частота хромосомных aberrаций, так и частота маркерных для действия радиации дисцентрических и кольцевых хромосом. У жителей пос. Горняк выявлена семейная картина хромосомной нестабильности.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Одной из самых главных проблем экологии сегодня является проблема загрязнения окружающей среды радиоактивными отходами атомной энергетики и продуктами распада при испытаниях ядерного оружия. Выпадение радиоактивных осадков и загрязнение обширных территорий сделало необходимой оценку отдаленных последствий такого воздействия.

В отличие от Хиросимы, Нагасаки и Чернобыля, где люди в основном подверглись однократному острому облучению, жители Алтайского края подвергались многократному внешнему облучению и инкорпорировали короткоживущие радионуклиды с пищей, водой и воздухом в течение ряда лет (1949–1963). Последствия такого воздействия еще мало изучены.

За последние годы у жителей Алтайского края наблюдается рост онкологических заболеваний, ранее не характерных для данного региона, например рак легкого у мужчин сельской местности. Возросла частота лейкозов, случаев анемии и врожденных пороков развития. Резко

увеличилось число новорожденных с атипичной формой конъюгационной желтухи и поражениями ЦНС. Общая продолжительность жизни снизилась у мужчин до 56, у женщин до 62 лет. Можно предположить, что причиной этого явились испытания ядерного оружия на Семипалатинском полигоне.

В данной работе мы попытались выявить отдаленные последствия испытаний ядерного оружия на Семипалатинском полигоне с помощью анализа цитогенетических нарушений у жителей Алтая.

Известно, что ионизирующие излучения разных типов способны индуцировать весь спектр хромосомных aberrаций одно- или двухударного происхождения [1]. Поэтому одним из основных и наиболее широко распространенных методов биоиндикации радиационного воздействия на человека до сих пор остается анализ частоты нестабильных и стабильных aberrаций хромосомного типа в лимфоцитах периферической крови [2]. Имеются данные об индукции таких перестроек у рабочих сланцевых разработок, у персонала радоновых курор-

тов Европы и у рабочих АЭС, получающих годовую суммарную дозу от 0,08 до 20 сГр [3]. У лиц, подвергающихся хроническому облучению в профессиональных условиях, хромосомный тип aberrаций преобладает. Наблюдается увеличение частоты анеуплоидных клеток, число aberrантных клеток возрастает с увеличением стажа работы и полученной дозы [4, 5]. При исследовании лимфоцитов периферической крови людей, участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС в 1986 г., обнаружено значительное увеличение количества хромосомных aberrаций, маркерных для действия радиации (дицентрики и кольца), которые в контрольных выборках встречаются с частотой 0,078 – 0,1 % [3–8].

Большинство авторов особую роль отводит именно дицентрическим и кольцевым хромосомам, так как они более специфичны для действия радиации, чем химических и биологических мутагенов [9]. Приводятся данные по обнаружению дицентриков и колец по прошествии 30–40 лет после радиационного воздействия у хикакуся (людей, пострадавших от ядерных взрывов в Хиросиме и Нагасаки).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования выбраны 2 района Алтайского края, расположенные на разном расстоянии от полигона: Локтевский р-н находится в 150 км от полигона, а Тальменский – в 500 км; соответственно жители этих районов получили разные дозы облучения.

Для обследования вычленили следующие категории жителей этих районов:

1. Дети с атипичной желтухой (АЖ) и множественными пороками развития (МПР) и их родственники второго и третьего поколений из пос. Горняк Локтевского р-на – 86 чел.

2. Дети с АЖ, их сибсы и родители из Тальменского р-на – 55 чел.

3. Шахтеры Горно-обогатительного комбината пос. Горняк со стажем работы от 1 до 26 лет – 17 чел.

Для определения контрольного уровня хромосомных aberrаций исследовали образцы крови 4 чел. в возрасте от 1 года до 33 лет из условно чистого Красногорского р-на Алтая, а также использовали литературные данные.

Для определения спектра цитогенетических нарушений у людей, достоверно подвергавшихся действию ионизирующей радиации, исследовали образцы крови:

а) испытуемых ядерного оружия на Семипалатинском полигоне – 5 чел.;

б) ликвидаторов аварии на ЧАЭС – 5 чел.

Материалом для хромосомного анализа служили лимфоциты периферической крови, стимулированные фитогемагглютинином. Культивирование лимфоцитов проводилось стандартными микро- и макрометодами [11–13]. У каждого человека анализировали в среднем 200 метафаз. Учитывали весь спектр структурных aberrаций хроматидного и хромосомного типов, принятый в качестве критериев оценки мутагенного воздействия [14]. Так называемые "гэпы" и анеуплоидные клетки не учитывали. На дифференциально окрашенных препаратах идентифицировали характер повреждений хромосом и выявляли мутации отдельных карิโอ типов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась методом оценки достоверности разницы между средним арифметическим двух выборочных совокупностей [15].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты обследования вышеперечисленных выборок представлены в таблицах 1–3 и на гистограмме (рис. 1).

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, в контрольной группе здоровых людей из Красногорского р-на Алтайского края обнаружены только хроматидные фрагменты. Частота aberrаций в среднем составляет 0,9 %, что хорошо согласуется с литературными данными. В группе испытуемых и ликвидаторов частота aberrаций в среднем составляет 5,4 %. Здесь кроме хроматидных и хромосомных разрывов выявлены также обменные aberrации хромосом – дицентрики и кольца. У двоих ликвидаторов чернобыльской аварии обнаружены межхромосомные хроматидо-хроматидные обмены.

Исследование цитогенетических нарушений у жителей пос. Горняк (табл. 2) обнаружило существенную гетерогенность по этому показателю, индивидуальные частоты хромосомных

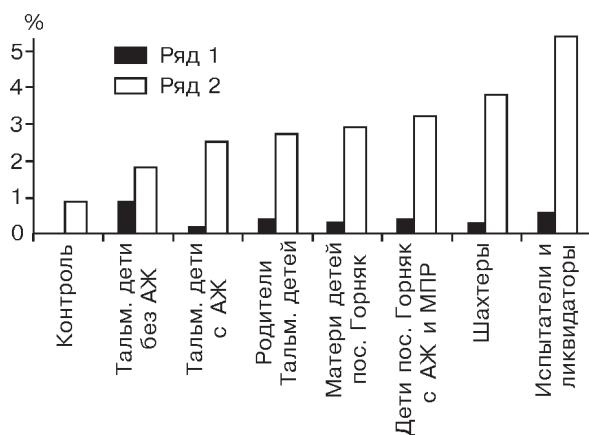


Рис. 1. Частоты хромосомных aberrаций в обследованных группах.

Ряд 1 – процент клеток с дицентрическими и кольцевыми хромосомами. Ряд 2 – процент клеток с aberrациями всех типов.

aberrаций колеблются от 0,5 до 9,7 %, а средняя частота aberrаций составляет 3,3 %.

Взятие в эксперимент группы шахтеров пос. Горняк, имеющих стаж работы в среднем около 10 лет, обусловлено попыткой выявить цитогенетическими методами компоненту воздействия химических мутагенов. Горные разработки, добыча и очистка целого ряда полиметаллических руд сопровождаются выбросом аэрозолей тяжелых металлов (свинец, хром, кадмий и т. д.). Кроме того, работники комбината как подземных, так и поверхностных производств контактируют с большим количеством гетероциклических соединений и кислот. Вероятность контакта с мутагенноактивными соединениями в данном случае очень велика. В этой группе средняя aberrационная частота составляет 3,8 %. У 5 шахтеров найдены единичные дицентрические и кольцевые хромосомы. У остальных шахтеров выявлены только одиночные или парные фрагменты, в среднем в 3 раза

больше, чем в контроле, что характерно для возможного действия слабых химических мутагенов или вирусов. Имеются данные о подобной картине в лимфоцитах периферической крови шахтеров Донбасса [16].

Интересно отметить, что в достаточно малой выборке пос. Горняк встретилось несколько редко встречающихся аномалий кариотипа. Один мальчик имел мозаичную форму синдрома Дауна. У двух других детей выявлены сбалансированные транслокации, унаследованные от матерей:  $tr(17p+, 22p-)$  и  $tr(15p+?)$ .

Как видно из табл. 3, у жителей Тальменского р-на также наблюдается повышенный уровень хромосомных aberrаций, причем частота aberrаций, характерных для действия радиации, выше контрольного уровня в 3 раза.

Группа тальменских детей, не перенесших желтуху, не укладывается в общую картину. В этой группе средняя частота aberrаций равна 1,8 %, что практически не превышает контрольный уровень, а уровень дицентриков и колец соответствует норме – 0,05 %. Возможно, что эти дети менее чувствительны к действию радиационных мутагенных факторов, чем их сибсы с АЖ.

В целом средняя частота хромосомных aberrаций у жителей Локтевского и Тальменского р-нов достоверно превышает контрольный уровень. У жителей Локтевского р-на (3,3 %) она больше, чем у жителей Тальменского (2,4 %), а средняя частота маркерных aberrаций (0,3 %) одинакова в обоих районах. Это несколько противоречит данным о том, что Тальменский р-н меньше подвергся радиационному загрязнению. На самом деле, либо оба района получили сходные дозы облучения, либо для оценки отдаленных последствий в нашем случае используемый метод не может быть биодозиметром.

Таблица 1  
Результаты цитогенетического обследования контрольных групп

Группы	Проанализировано		Хроматидные		Хромосомные			Всего клеток с aberrациями	Клетки с aberrациями, %	P	Дицентрики и кольца, %
	человек	клеток	фрагменты	обмены	фрагменты	обмены	кольца				
Жители экологически чистого района	4	800	7	0	0	0	0	7	0,9 ± 0,0033		0
Испытатели и ликвидаторы	10	1800	58	3	27	4	6	98	5,4 ± 0,0054	< 0,001	0,6 ± 0,0018

Т а б л и ц а 2

## Результаты цитогенетического обследования жителей пос. Горняк

Группы	Проанализировано		Хроматидные		Хромосомные			Всего клеток с аберрациями	Клетки с аберрациями, %	Р	Дицентрики и кольца, %
	человек	клеток	фрагменты	обмены	фрагменты	обмены	кольца				
Дети с АЖ и МПР	26	4740	97	5	37	12	5	154	3,2 ± 0,0026	< 0,001	0,4 ± 0,0009
Их матери	24	4565	80	2	37	8	7	135	2,9 ± 0,0025	< 0,001	0,3 ± 0,0008
Шахтеры	17	2135	53	0	21	2	5	81	3,8 ± 0,0041	< 0,001	0,3 ± 0,0012
Все обследованные жители	86	13688	281	7	120	26	20	453	3,3 ± 0,0015	< 0,001	0,3 ± 0,0005

Сложно объяснить повышенный уровень маркеров радиации у детей, родившихся значительно позже окончания ядерных испытаний (80–90-е гг.).

Для иллюстрации этого феномена обследовано 7 семей в пос. Горняк. Нашей целью было проследить семейную картину цитогенетических нарушений и проанализировать уровень хромосомных нарушений в двух–трех поколениях жителей пос. Горняк. Семьи выбраны по принципу наличия в них ребенка с АЖ или МПР. Характерными примерами являются семьи М-ых, Ч-о и К-ых.

1. Семья М-ых (рис. 2). В семье выявлен ребенок М-в, 1,8 л., имеющий мутантный клон клеток периферической крови с кариотипом 49; Ху (+3,+19,+der.21). Проведено 2 исследования с интервалом в полгода. Первично клон присутствовал в 12 % анализируемых лимфоцитов, повторно – в 26 %. Вскоре мальчик умер. Диагноз хронический лимфолейкоз подтвержден. В этой семье у отца и бабушки по отцовской линии частота хромосомных аберраций очень высока (5 и 14 % соответственно), при этом половина аберраций представлена хромосомным типом. По материнской линии

уровень аберраций также существенно превышает показатели контроля и составляет для матери, бабушки и дедушки 3,3, 2,5 и 4,4% соответственно.

2. Семья Ч-о (рис. 3). В данной семье обследовано только два поколения. Уровень аберраций хромосом и у отца, и у матери довольно высок. Отец – местный житель, мать приехала с Украины. В мае 1986 г. они были в отпуске под Киевом (авария на ЧАЭС). Возможно, поэтому у матери из 12 найденных аберраций 7 относятся к хромосомному типу. Младший ребенок перенес желтуху в месячном возрасте. У него в 3 года в лимфоцитах периферической крови отмечаются хроматидные разрывы. У сына 16-ти лет выявлены фрагменты хромосом. Отец семейства болен раком мочевого пузыря, 4 % аберрантных клеток у него представлены обоими типами перестроек.

3. Семья К-ых (рис. 4) Семья имеет носителя множественных пороков развития, у которого обнаружено 4,7 % хромосомных аберраций. В данной семье в трех поколениях наблюдается картина, в целом характерная для жителей пос. Горняк. Обследование остальных семей в пос. Горняк с высоким уровнем маркеров выя-

Т а б л и ц а 3

## Результаты цитогенетического обследования жителей Тальменского р-на

Группы	Проанализировано		Хроматидные		Хромосомные			Всего клеток с аберрациями	Клетки с аберрациями, %	Р	Дицентрики и кольца, %
	человек	клеток	фрагменты	обмены	фрагменты	обмены	кольца				
Дети с АЖ	16	2639	32	0	31	3	1	67	2,5 ± 0,0030	< 0,001	0,2 ± 0,00086
Их sibсы	11	2200	25	0	12	1	0	40	1,8 ± 0,0028	< 0,05	0,05 ± 0,0005
Родители	28	4605	49	1	53	12	9	124	2,7 ± 0,0023	< 0,001	0,4 ± 0,00093
Всего жителей	55	9444	106	1	96	16	10	229	2,4 ± 0,0016	< 0,001	0,3 ± 0,00056

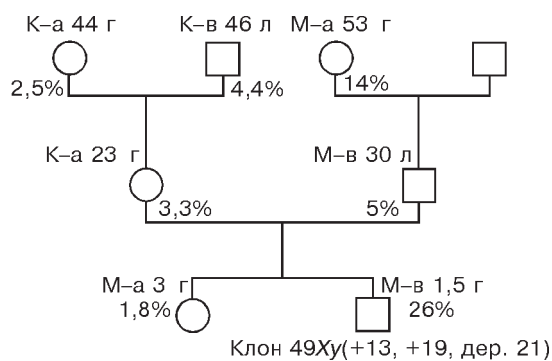


Рис. 2. Семья М-ых.

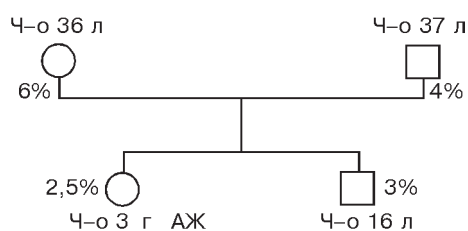


Рис. 3. Семья Ч-о.

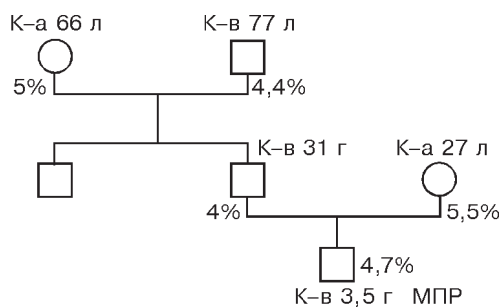


Рис. 4. Семья К-ых.

вило сходную семейную картину хромосомной нестабильности.

Как следует из демонстрируемых наиболее характерных родословных, наличие высокого уровня хромосомных aberrаций у представителей третьего (облученного) поколения сочетается с таковым хотя бы у одного из родителей и одного из детей. Интересно было бы взять в исследование представителей четвертого поколения, это даст дополнительную информацию о возникших *de novo* мутациях кариотипа. Сбалансированная транслокация  $tr(17p+, 22p-)$ , найденная у ребенка с АЖ, была получена им от матери, а мать — от ее отца.

Механизм семейной передачи хромосомной нестабильности не ясен. Можно лишь предположить, что в поколениях фиксируется повы-

шенная чувствительность к различным факторам индуцированного мутагенеза на фоне снижения активности систем репарации.

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование лимфоцитов периферической крови у 158 жителей двух районов Алтая, подвергшихся радиационному загрязнению, позволяет сделать следующие выводы:

1. У жителей и Локтевского, и Тальменского р-нов Алтайского края средняя частота хромосомных aberrаций достоверно ( $P < 0,001$ ) превышает контрольный уровень.

2. Во всех обследованных выборках обнаружены маркерные для действия радиации aberrации хромосом (дицентрики и кольца). Их частоты колеблются от 0 до 0,6 % и в среднем составляют в обоих районах 0,3 %, что превышает контрольный уровень в 3 раза.

3. У шахтеров пос. Горняк выявлены хромосомные aberrации, характерные для индукции как химическими мутагенами, так и радиацией. Средняя частота aberrаций — 3,8 %.

4. В обследованных районах выявлен феномен семейной нестабильности хромосом, причем у детей, не подвергавшихся непосредственному действию радиации, обнаружены дицентрики и кольца, характерные для радиационного воздействия.

5. Для выявления более полной картины требуется расширить исследуемые выборки. Необходимо провести повторное обследование жителей, чтобы оценить воспроизводимость обсуждаемых результатов и динамику проявления маркерных aberrаций. Интересно в дальнейшем проследить эффективность реабилитационных мероприятий в этих районах.

Авторы выражают признательность коллективу лаборатории цитогенетики животных (заведующий лабораторией д-р биол. наук А. С. Графодатский) за содействие в работе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Тимофеев-Ресовский, Теория мишени, Применение принципа попадания в радиобиологии, М., Атомиздат, 1968, 27–35.
2. М. А. Bender, P. C. Gooch, *Radiat. Res.*, 1966, 4, 568–584.

3. J. Poul-Ruling, *Adv. Mutat. Res.*, 1990, 2, 155–190.
4. Н. А. Мазник, I Всесоюзный радиобиологический съезд. Тез. докл., т. 3, Пущино, 1989, 616–617.
5. О. В. Блох, Там же, 572–573.
6. Н. П. Бочков, *Вестн. РАМН*, 1993, 6, 51–55.
7. М. А. Пилинская, А. М. Шеметун, С. С. Дыбский и др., *Радиобиология*, 1992, 32, 632–639.
8. В. Г. Зайнуллин, П. А. Бородкин, С. И. Черняк и др., Там же, 668–672.
9. Anonymous. Ionizing Radiation: Sources and Biological Effects // United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. United Nations, New York, 1982.
10. A. A. Awa, *J. Radiat. Res. Suppl.*, 1991, 5, 265–274.
11. P. S. Moorhead, P. C. Nowell, W. J. Mellman, *Exptl. Cell Res.*, 1960, 20, 613–616.
12. А. Ф. Захаров, В. А. Беньюш, Н. П. Кулешов, Л. И. Барановская, *Хромосомы человека*, М., Медицина, 1982, 195–197.
13. А. С. Графодатский, С. И. Раджабли, *Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих*. Атлас, Новосибирск, Наука, Сибирское отделение, 1988, 10–15.
14. S. Cao, Z. Deng, Z. Zhen et al., *Health Phys. (Abstr.)*, 1981, 41, 586.
15. П. Ф. Рокицкий *Биологическая статистика*, Минск, Высшэйш. шк., 1967, 97–99.
16. В. М. Фролов, Н. А. Пересадин, Е. Ф. Сафонова, И. Р. Барияк, *Цитология и генетика*, 1993, 27: 4, 10.

### **Studies of Cytogenetic Disturbances in the Altai Inhabitants in Radioactive Pollution Zone**

A. V. PONOMAREVA, V. G. MATVEEVA

Chromosome aberrations were studied in inhabitants of Talmenka and Loktevo districts of the Altai Krai. It is considered that these districts were in the radioactive pollution zone during nuclear tests in the Semipalatinsk testing ground. When groups of children with atypic jaundice and multiple defects of development as well as their relatives and groups of miners of Gornyak settlement were examined, these samples were found to be characterized by a chromosomal instability. In the two districts both a heightened total frequency of chromosome aberrations as compared to control and the frequency of dicentric and ring chromosomes that are markers of irradiation effect were found. In Gornyak inhabitants familial patterns of chromosomal instability were detected.