

несмотря на лингвистическую и географическую подразделенность кавказских популяций.

Работа проведена при поддержке грантами РФФИ и РГНФ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балановская Е.В., Балановский О.П. Русский генофонд на Русской равнине. – М.:Луч. - 2007.- 416 с.
2. База данных ALFRED <http://alfred.med.yale.edu/> .
3. Народы мира: историко-этнографический справочник. Главный редактор Ю.В.Бромлей. – М.: Советская энциклопедия. - 1988.-624с.
4. Balanovsky O, Pocheshkhova E, Pshenichnov A, Solovieva D, Kuznetsova M, Voronko O, Churnosov M, Tegako O, Atramentova L, Lavryashina M, Evseeva I, Borinska S, Boldyreva M, Dubova N, Balanovska E. Is spatial distribution of the HIV-1-resistant CCR5Delta32 allele formed by ecological factors? //Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Sciences. 2005 Jul;24(4):375-382.
5. Zimmerman P.A., Wieseman M., Spalding T., Boatman B.A., Nutman T.B. A new intercellular adhesion molecule-1 allele identified in West Africans is prevalent in African-Americans in contrast to other North American racial groups // Tissue Antigens. -1997. -N 50(6). - P.654-656.
6. Galvani, Novembre. The evolutionary history of the CCR5-Delta32 HIV-resistance mutation // Microbes Infect. 2005.- N 7(2).- P. 302-309.

#### РЕЗЮМЕ

*По частоте делеции CCR5del32 изучено 13 народов Кавказа, относящихся к трем крупным лингвистическим семьям: северо-кавказской, индоевропейской и алтайской. По частоте CCR5del32 народы Кавказа объединяются в единую группу. Среди изученных кавказских народов только кубачинцы приближаются к индоевропейским народам по частоте аллеля CCR5del32.*

*13 peoples of Caucasus representing three linguistic families (North-Caucasian, Indo-European and Altaic) have been genotyped for CCR5del32 deletion. Peoples of Caucasus have similar frequencies of CCR5del32 compared with Indo-Europeans. Among the Caucasic peoples studied, only Kubachinians have a frequency of CCR5del32 more close to that of Indo-Europeans.*

**КОВАЛЕВА В.И., БАГАЦКАЯ Н.В., ДЕМЕНКОВА И.Г., НЕФИДОВА В.Е.**

*Государственное учреждение «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», Украина, 61153, Харьков, пр. 50-летия ВЛКСМ, 52-А, E-mail: deminn@ukr.net*

#### ОЦЕНКА МУТАГЕНЕЗА У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ В СЕМЬЯХ ЛИКВИДАТОРОВ АВАРИИ НА ЧАЭС

Одной из причин ухудшения демографической ситуации в Украине является повышение уровня загрязненности окружающей среды, в частности, вследствие аварии на Чернобыльской АЭС. Наиболее опасным последствием техногенного экологического риска является переход геномной нестабильности в половых клетках родителей, индуцированной сублетальными дозами ионизирующей радиации, в соматические клетки потомков [3, 5]. В последние годы в радиобиологических исследованиях установлено, что помимо прямых мутагенных эффектов, ионизирующая

радиация приводит к индукции в потомках облученных многократно поделившихся клеток геномной нестабильности в виде различных нарушений генетического аппарата (разрывов ДНК, структурных aberrаций хромосом, генных мутаций, сестринских хроматидных обменов (СХО), анеуплоидий, полиплоидии) [7, 8, 11].

Известно, что для трансформации нормальной клетки человека в злокачественную необходимо 6-8 последовательных мутационных изменений, которые могут происходить как в соматических, так и в половых клетках. Мутации, возникшие в половых клетках, передающиеся потомкам, обуславливают наследственную предрасположенность к онкозаболеваниям в родословных на протяжении многих поколений [1, 2].

Цитогенетические исследования, как составная часть системы медицинского контроля за лицами, пострадавшими в результате ядерных аварий, выполняются с конца 60-х годов прошлого века и могут служить основанием для прогнозирования отдельных неблагоприятных стохастических эффектов облучения. В качестве специфического цитогенетического биомаркера радиационного воздействия на человека используется частота стабильных и нестабильных aberrаций хромосомного типа [10].

В последнее время наиболее актуальными и активно изучаемыми являются так называемые «дисгеномные эффекты», в частности, скрытая генетическая нестабильность, которая проявляется повышением чувствительности генома к дальнейшему действию различных мутагенов. Феномен геномной нестабильности характеризуется предрасположенностью к мультифакториальным заболеваниям, формированием вариантов с множественными аномалиями, повышением частоты возникновения хромосомных aberrаций и мутаций микросателлитассоциированных фракций ДНК [9].

Снижение генотоксических эффектов происходит благодаря развившейся в процессе эволюции системе естественной клеточной защиты. Целостность и стабильность наследственных структур поддерживается матричными процессами, среди которых большое значение имеет репарация ДНК. Уровень повреждения генома зависит от его способности репарировать изменения, постоянно возникающие в результате внешних воздействий на организм [1].

Для определения репарационной активности генома информативным является тест на чувствительность хромосом клеток к генотоксическому эффекту ряда мутагенов, таких как блеомицин, митомицин С и др. *in vitro* [1, 6]. Использование провокационного мутагенеза позволило выявить скрытую нестабильность генома лимфоцитов периферической крови, что проявлялось как повышением частоты aberrаций хроматидного типа, неспецифичных для радиационного действия *in vitro*, так и неадекватной реакцией на тестирующую мутагенную нагрузку. Это может быть отражением генетически обусловленных или радиационно модифицированных возможностей организма детей, проживающих в населенных пунктах Украины с различной экологической обстановкой.

Вместе с тем, вопрос о последствиях облучения родителей, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС для их потомства, остается недостаточно изученным.

Это явилось основанием для изучения спонтанного уровня хромосомных повреждений в лимфоцитах периферической крови у детей, родители которых являлись ликвидаторами аварии на ЧАЭС, а также проведения исследования с помощью провоцирующего мутагенеза (дополнительной обработки культур *in vitro* мутагеном-провокатором блеомицином) для выявления лиц мутационного риска.

#### **Материалы и методы**

Цитогенетическое исследование выполнено у 21 пробанда, рожденного от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС (основная группа), и у 8 практически здоровых

детей (контрольная группа), обследованных в лаборатории медицинской генетики ГУ «ИОЗДП АМН Украины». Культивирование лимфоцитов периферической крови проводили стандартным методом [12]. Культивировали лимфоциты периферической крови в 3 мл среды RPMI, содержащей 15% эмбриональной телячьей сыворотки, 17 мкг/мл ФГА (Sigma, США), 0,25мл цельной крови в течение 72 часов. На 67 –м часу инкубации в культуру вводили блеомицин в конечной концентрации 3 мкг/мл на 5 часов до снятия культуры. За 3 часа до фиксации в культуру добавляли колхицин в конечной концентрации 7,5 мкг/мл.

Анализировали по 100 метафаз от каждого ребенка в соответствии с общепринятыми требованиями. Учитывали все типы повреждений хромосом за исключением ахроматических (пробелов). У детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, проанализировано 3369 (1785 до мутагенной нагрузки и 1584 после) метафазных пластинок. У детей контрольной группы проанализировано 1573 (808 до мутагенной нагрузки и 769 - после) метафаз.

### **Результаты и обсуждение**

Результаты цитогенетических исследований показали, что хромосомные aberrации (ХА) присутствовали как в клетках здоровых детей, так и в клетках детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС. У детей контрольной группы спонтанный уровень aberrаций находился в пределах  $0,99 \pm 0,35\%$ , а у детей основной группы -  $2,63 \pm 0,38\%$ , что превышало частоту ХА в контроле ( $p < 0,001$ ) в 2,6 раза.

В контрольной группе до мутагенной нагрузки встречались только aberrации двух типов: одиночные и парные фрагменты, с частотой  $0,62 \pm 0,28$  и  $0,37 \pm 0,21$  aberrаций на клетку соответственно.

У пробандов основной группы регистрировались aberrации нескольких типов – одиночные и парные фрагменты, нерасхождение и преждевременное расхождение сестринских хроматид, дицентрики, разрывы по центромере и полиплоидные клетки. Наибольшая частота встречаемости мутаций в этой группе была зафиксирована для aberrаций хромосомного типа: парные фрагменты -  $0,90 \pm 0,22$  и полиплоидные клетки -  $1,06 \pm 0,24$ . Соотношение между хромосомными и хроматидными aberrациями составило 83% и 17% соответственно, что свидетельствует о том, что у детей, родившихся от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, происходит сдвиг в сторону увеличения частоты хромосомных aberrаций. Полученные данные совпадают в полной мере с данными литературы [4], согласно которым aberrации хромосомного типа считаются специфичными для радиационного воздействия, тогда как хроматидного – для химических мутагенов.

Таким образом, изучение состояние генетического аппарата у детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, а также у детей контрольной группы свидетельствовало о снижении частоты ХА у детей контрольной группы.

Анализируя частоту метафаз с aberrациями хромосом после мутагенного воздействия блеомицином и в интактных культурах, мы установили, что суммарная частота повреждений хромосом после воздействия мутагенной нагрузки у детей основной группы возросла до  $25,63 \pm 1,10\%$ , а в группе контроля до  $21,96 \pm 1,04\%$ ,  $p < 0,05$ . При этом частота aberrаций хроматидного типа после воздействия блеомицином *in vitro* в клетках лимфоцитов периферической крови у детей контрольной группы и основной группы не различалась. Мы полагаем, в связи с тем, что дети основной и контрольной группы проживают в одинаковых экологических условиях (г. Харьков, Харьковская область), то вполне закономерно, что частота aberrаций хроматидного типа, которые являются маркерами химического загрязнения, в группах сравнения не различалась.

Что касается aberrаций хромосомного типа, то отмечалась тенденция к увеличению их частоты в основной группе, однако данные статистически не различались.

Полиплоидные клетки регистрировались у детей основной группы как в обработанных блеомицином культурах ( $0,51 \pm 0,34\%$ ), так и в интактных культурах ( $1,06 \pm 0,24\%$ ,  $p < 0,05$ ). В группе контроля этот вид численных нарушений наблюдался только в культурах, обработанных блеомицином, и составлял  $1,18 \pm 0,39\%$ . В целом, суммарная частота ХА в клетках пациентов основной и контрольной групп превышала данные, полученные без дополнительной нагрузки ( $p < 0,001$ ).

Следовательно, при сопоставлении реакции хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови на тестирующее мутагенное воздействие *in vitro* было установлено, что дети основной группы более чувствительны, а дети контрольной группы оказались более стойкими к дополнительному мутагенному влиянию. Использование теста на чувствительность хромосом клеток к генотоксическому эффекту блеомицина *in vitro* позволило выявить наличие изменений стабильности генома соматических клеток детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС, а также выявить группу лиц высокого мутационного риска.

#### **Выводы**

1. Частота спонтанного уровня ХА у детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, составила  $2,63 \pm 0,38\%$ , что достоверно превышало частоту хромосомных aberrаций у детей контрольной группы ( $0,99 \pm 0,35\%$ ,  $p < 0,001$ ).

2. У детей основной группы уровень ХА после мутагенной нагрузки блеомицином существенно превышал частоту ХА у здоровых детей ( $25,63 \pm 1,10\%$  и  $21,96 \pm 1,04\%$  соответственно,  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о генетической нестабильности генома детей, родители которых участвовали в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС.

#### **Литература**

1. Болтіна І.В. Частота аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові хворих на гліоми головного мозку при дії модельних мутагенів мітоміцину та диметеоату // Автореф. дис. ... канд. біол. наук. - К., 2005. – 20 с.

2. Бочков Н.П. Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1989. – 270 с.

3. Бурлаков Е.Б., Михайлив В.Ф., Мазурик В.К. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2001. - Т.41, № 5. – С. 489 – 499.

4. Мазник Н.О. Стабільні аберації хромосом як довгостроковий маркер радіаційного впливу // Український Радіологічний Журнал. – 2003. - №11. – С. 106 – 118.

5. Молекулярно-генетичні механізми в реалізації віддалених наслідків іонізуючого випромінення / А.А. Чумак, Д.А.Базика, І.В.Абраменко та інші //Журн. АМН України – 2006 – Т.12, №1 – С.161-167

6. Мутагенез в лимфоцитах крови у жителей сельской местности зоны отчуждения Чернобыльской АЭС / Л.К. Бездробная, Т.В. Цыганок, Е.П. Романова, А.В. Бухал, Л.А.Климкина // Междунар. журнал радиационной медицины – 2003. - №5. – С.118-127.

7. Настюкова В.В., Баронова Е.В. Распространенность цитогенетических аномалий у детей с врожденными пороками развития (ВПР) // Цитология и генетика. – 2000. – Т. 34, № 3. – С. 49 – 54.

8. Нейфах Е.А., Алимбекова А.И., Сусков И.И. Биохимические механизмы радиогенных цитогенетических и соматических нарушений у детей – резидентов загрязненных радионуклидами регионов // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2002. - Т.42, № 6. – С. 615 – 623.

9. Педан Л Р Радіо індукований цитогенетичний ефект і його модифікація *in vitro* в лімфоцитах периферичної крові осіб, які постраждали від Чорнобильської аварії. // Автореф. дис. ... канд. біол. наук. - К., 2005. – 19 с.

10. Пилинская М.А. Цитогенетические эффекты в соматических клетках лиц, пострадавших вследствие Чернобыльской катастрофы, как биомаркер действия ионизирующих излучений в малых дозах // Междунар. журнал радиационной медицины – 1999. - №2. – С.60-66.

11. Сусков И.И., Кузьмина Н.С. Проблема индуцированной геномной нестабильности в детском организме в условиях длительного действия малых доз радиации // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2001. - Т.41, № 5. – С. 704-707.

12. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J. Chromosomes preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood // Exper. Cell. Res. – 1960. – Vol.20. – P. 613–616.

### **Резюме**

В работе представлены характеристики спонтанного уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови у детей, рожденных в семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС и здоровых сверстников. Проведена оценка мутагенеза у всех обследованных пробандов, выявлена скрытая нестабильность генома в ответ на мутагенную нагрузку блеомицином.

У роботі представлено характеристики спонтанного рівня хромосомних aberrаций у лімфоцитах периферичної крові у дітей, народжених у сім'ях ліквідаторів аварії на ЧАЕС, і здорових однолітків. Проведено оцінку мутагенезу у всіх обстежених пробандів, виявлено приховану нестабільність геному у відповідь на мутагенне навантаження блеомицином.

The study presents characteristics of the spontaneous rate of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of children, born into the families of the Chernobyl disaster liquidators and of healthy age-matched children . Mutagenesis was estimated in all the examined probands, and latent genome instability was revealed as a response to bleomycin mutagenic load.

**КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup> М.А., ПОЧЕШХОВА<sup>2</sup> Э.А., ДИБИРОВА<sup>1</sup> Х.Д., ВАСИНСКАЯ<sup>1</sup> О.А., ФРОЛОВА<sup>1</sup> С.А., ПШЕНИЧНОВ<sup>1</sup> А.С., БАЛАНОВСКИЙ<sup>1</sup> О.П., ПУЗИНА<sup>1</sup> Т.А., ОРЛОВ<sup>1</sup> А.И., СОЛОВЬЕВА<sup>1</sup> Д.С., ДУБОВА<sup>3</sup> Н.А., БАЛАНОВСКАЯ<sup>1</sup> Е.В.**

<sup>1</sup>ГУ Медико-Генетический научный центр РАМН, г. Москва, Россия;

<sup>2</sup>Кубанская государственная медицинская академия, г. Майкоп, Россия;

<sup>3</sup>Институт этнографии и антропологии РАН, г. Москва, Россия.

[kirya70@list.ru](mailto:kirya70@list.ru)

### **ОЦЕНКА РАЗЛИЧИЙ ТЮРКОЯЗЫЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЕВРОПЫ ПО СПИД-ПРОТЕКТОРНОМУ ГЕНУ CCR5del32**

Делеционный полиморфизм del32 в локусе CCR5 представляет большой научный и практический интерес. Лица, несущие хотя бы один аллель с делецией, обладают повышенной устойчивостью к развитию СПИДа при заражении ВИЧ-1, а у лиц, несущих два делеционных аллеля, при заражении ВИЧ-1 СПИД практически не развивается [Stephens et al., 1998]. При этом известны четкие географические закономерности распространения CCR5del32 [Balanovsky et al., 2005], благодаря чему изучение изменчивости этой делеции может пролить свет на историю популяций.