

О. О. Талан, О. В. Шеметун

Частота аберацій хромосом у осіб різного віку, які проживають у Києві

(Представлено академіком НАН України Ю. І. Кундієвим)

За допомогою G-диференційного забарвлення метафазних хромосом проведено цитогенетичне обстеження дітей віком від 12 до 16 років і дорослих віком від 27 до 48 років, які постійно проживали в Києві, заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими мутагенами, вели здоровий спосіб життя. Відмічено зростання рівня аберацій хромосом у дорослих осіб ($2,51 \pm 0,34$ на 100 метафаз) порівняно з групою дітей ($1,26 \pm 0,28$ на 100 клітин), за рахунок транслокацій і делецій хромосом.

У зв'язку зі збільшенням техногенного навантаження на природу виникла необхідність оцінки впливу мутагенів довкілля на людину [1]. Ефективним методом оцінки такого впливу є цитогенетичний аналіз, що дозволяє встановити рівень хромосомних порушень у соматичних клітинах людини. При цьому контрольною вважається частота хромосомних аберацій в умовно здорових осіб, які заперечують свідомий контакт з мутагенами фізичної, хімічної та біологічної природи.

Провідними українськими та закордонними вченими виявлено зростання частоти спонтанних аберацій хромосом у соматичних клітинах людини протягом останніх 20 років [2–4]. Деякими дослідниками показано кореляцію між розвитком онкологічної патології та рівнем аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові [5]. Це обумовлює особливу актуальність оцінки мутаційного процесу в соматичних клітинах людини в післячорнобильський період.

На спонтанний рівень аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові людини впливають не лише зовнішні, а й внутрішні чинники, зокрема вік обстежених [1]. Дані літератури з цієї проблеми на сьогодні є досить суперечливими. Це може бути спричинено тим, що більшість результатів зі спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини в основному отримані з використанням аналізу рівномірно забарвлених метафазних хромосом та, частково, методу флюоресцентної *in situ* гібридизації метафазних хромосом з ДНК зондами (FISH), які не дозволяють повною мірою зареєструвати весь спектр хромосомних аберацій [6–8]. Лише незначна кількість досліджень виконана за допомогою аналізу диференційно G-забарвлених метафазних хромосом (який є “золотим стандартом” для виявлення всіх типів хромосомних порушень і істотно збільшує інформативність цитогенетичного аналізу), що зумовлено трудомісткістю цього методу [9, 10].

Враховуючи викладене, дослідження стабільності хромосомного апарату соматичних клітин людини в осіб різного віку при спонтанному мутаційному процесі є однією з актуальних проблем сучасної медичної генетики.

Наша мета полягала у встановленні частоти всіх типів аберацій хромосом у осіб різного віку, які постійно проживають в умовах великого промислового міста.

Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові, одержані від 18 умовно здорових осіб середнього віку (27–48 років) та 14 умовно здорових дітей 12–16 років, які постійно проживали в Києві та заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими знаними чи потенційними мутагенами, вели здоровий спосіб життя.

Лімфоцити периферичної крові культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом [11] протягом 48 год. Цитогенетичний аналіз виконували з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом за методом M. Seabright [12]. Це дозволило виявити весь спектр стабільних та нестабільних аберацій хромосом та коректно встановити їх рівень.

Загалом проаналізували 3578 метафаз: 1508 клітин від дітей та 2070 клітин від дорослих осіб середнього віку (табл. 1). Від кожного обстеженого аналізували не менше 100 диференційно забарвлених метафаз.

Хромосомний аналіз проводили на зашифрованих препаратах. Аналіз здійснювали під мікроскопами зі збільшенням $\times 1000$. Враховували аберації хроматидного (хроматидні розриви, обміни) і хромосомного (дицентричні й кільцеві хромосоми, транслокації, пара- та перичентричні інверсії, інсерції, термінальні та інтерстиціальні делеції) типів. Під час аналізу реєстрували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з міжнародною номенклатурою ISCN-2005 [13].

Отримані дані опрацьовували з використанням методу порівняння середніх величин за Стьюдентом–Фішером.

Результати цитогенетичного обстеження показали, що середньогрупова частота аберацій хромосом у обстежених дітей становила $1,26 \pm 0,28$ на 100 метафаз. У дорослих цей показник був статистично вищим і дорівнював $2,51 \pm 0,34$ на 100 клітин ($p < 0,05$) (див. табл. 1).

Серед дорослих варіабельність індивідуальних значень частоти аберацій хромосом становила від 0,80 до 3,33%. У групі дітей цей показник знаходився в межах популяційного (за даними літератури, цитогенетичний ефект у соматичних клітинах людини при спонтанному мутагенезі коливається від 0 до 3%) [2]. При цьому слід зазначити, що у 28% обстежених дорослих донорів зареєстровано клітини з двома абераціями хромосом, тоді як у дітей цього не спостерігалось. Отримані результати вказують на те, що в осіб середнього віку збільшується такий цитогенетичний показник, як пошкодженість абераційної клітини. А. Н. Чеботарьов пояснює подібні закономірності більш ефективним перебігом репаративних процесів у осіб молодого віку [3].

Таблиця 1. Результати цитогенетичного обстеження дітей та дорослих, які проживають у Києві, отримані при використанні G-диференційного забарвлення хромосом

Тип пошкодження	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин ($M \pm m$)		P
	Діти	Дорослі	
Аберантні клітини	$1,26 \pm 0,28$	$2,29 \pm 0,33$	$< 0,05$
Аберації хромосом	$1,26 \pm 0,28$	$2,51 \pm 0,34$	$< 0,05$
хроматидного типу	$0,60 \pm 0,20$	$0,73 \pm 0,19$	$> 0,05$
хромосомного типу	$0,66 \pm 0,21$	$1,78 \pm 0,29$	$< 0,05$
дицентричні та кільцеві хромосоми	$0,07 \pm 0,06$	$0,19 \pm 0,09$	$> 0,05$
транслокації та інверсії	$0,13 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,15$	$< 0,05$
хромосомні делеції	$0,46 \pm 0,17$	$1,12 \pm 0,23$	$< 0,05$

У групі обстежених дітей частоти хроматидних і хромосомних аберацій майже не відрізнялись між собою і становили: $0,60 \pm 0,20$ і $0,66 \pm 0,21$ на 100 метафаз відповідно (див. табл. 1), тобто 47,6 і 52,4% загальної кількості пошкоджень хромосом. У групі дорослих спостерігалось зростання частоти аберацій хромосомного типу: $1,78 \pm 0,29$ на 100 метафаз проти $0,73 \pm 0,19$ на 100 клітин хроматидних порушень (див. табл. 1), що становило 71 і 29% загальної кількості хромосомних порушень. Отримані нами результати узгоджуються з даними Р. Егсег [14], який відмічав зростання аберацій хромосомного типу з віком. Н. Є. Любімова та І. Є. Воробцова також відзначали підвищення загального рівня хромосомних аберацій з віком, тоді як частота хроматидних пошкоджень не змінювалась [1]. Зі збільшенням віку зростала частота стабільних аберацій (транслокацій та інверсій), підвищувався рівень дицентриків, хоча і менш виражено, ніж зростання частоти транслокацій. Це можна пояснити тим, що нестабільні хромосомні обміни елімінуються з більшою швидкістю, ніж стабільні аберації хромосом, оскільки вони істотно змінюють генетичний баланс клітин [1]. Треба зазначити, що дослідження вказаних авторів виконані з використанням методу FISH, а наші дослідження проведені за допомогою диференційного забарвлення хромосом; разом з тим отримані результати є порівнянними. За даними Н. П. Бочкова, при спонтанному хромосомному мутагенезі питома вага аберацій хроматидного типу становить близько 70% усіх хромосомних перебудов [2]. Зменшення частки пошкоджень хроматидного типу в наших дослідженнях за рахунок підвищення частоти аберацій хромосомного типу в старшій групі обстежених (питома вага яких становила 71%), імовірно, зумовлене як впливом неіонізуючого випромінювання від побутової техніки, мобільних телефонів і т. п., так і накопиченням з віком стабільних хромосомних перебудов, що узгоджується з дослідженнями О. В. Шеметун, виконаними в попередні роки [10, 15].

У всіх обстежених пошкодження хроматидного типу були представлені лише хроматидними розривами.

Аналіз спектра аберацій хромосомного типу в обох групах виявив термінальні та інтерстиціальні делеції, транслокації, інверсії, дицентричні і кільцеві хромосоми. Переважну більшість цих пошкоджень у всіх обстежених складали делеції, які зустрічались з частотою $0,46 \pm 0,17$ та $1,12 \pm 0,23$ на 100 метафаз у групах дітей та дорослих відповідно (див. табл. 1). Більшість делецій хромосом було представлено термінальними пошкодженнями. У старшій групі рівень делятованих хромосом достовірно перевищував відповідний показник у дітей ($p < 0,05$). Сумарна частота дицентричних і кільцевих хромосом в групі дітей становила $0,07 \pm 0,06$ на 100 клітин (див. табл. 1), що добре узгоджується з даними літератури [1]. Цей показник у групі дорослих становив $0,19 \pm 0,09$ на 100 метафаз і не мав істотної різниці з обстеженими молодшого віку (див. табл. 1). Разом з тим сумарна частота транслокацій та інверсій у групі дорослих достовірно перевищувала цей показник у дітей і становила $0,47 \pm 0,15$ та $0,13 \pm 0,09$ на 100 клітин відповідно (див. табл. 1).

Існуючі на сьогодні дані не дозволяють виключити можливість частішої чи, навпаки, рідшої участі окремих хромосом у перебудовах при спонтанному мутаційному процесі. Проведений нами цитогенетичний аналіз розподілу точок розривів хромосом при формуванні аберацій показав, що в обстежених групах хромосоми пошкоджувались пропорційно їх довжині. Аналіз пошкоджуваності окремих бендів хромосом виявив, що більшість розривів відбувається в еухроматинових районах хромосом.

Цитогенетичне обстеження умовно здорових мешканців Києва різного віку, проведене з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом, показало, що у дітей віком від 12 до 16 років частота аберацій хромосом становила $1,26 \pm 0,28$ на 100 клітин.

У осіб середнього віку (27–48 років) зафіксовано зростання середньогрупового рівня аберацій хромосом до $2,51 \pm 0,34$ на 100 клітин за рахунок збільшення частоти транслокацій і делецій хромосом, що є стабільними хромосомними перебудовами і накопичуються протягом життя.

Отримані результати поповнюють базу даних щодо рівня спонтанного хромосомного мутагенезу в Українській популяції у віддалені строки після аварії на Чорнобильській АЕС.

1. Любимова Н. Е., Воробцова И. Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека // Радиационная биология. Радиационная экология. – 2007. – **47**, № 1. – С. 80–85.
2. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д., Платонова В. И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Вестн. РАМН. – 2001. – № 2. – С. 21–29.
3. Чеботарев А. Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Там же. – 2001. – № 10. – С. 64–69.
4. Tawn T. J. Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding // Mutat. Res. – 2001. – **490**. – P. 171–177.
5. Hagmar L., Stromberg U., Bonassi S. et al. Impact of Types of Lymphocyte Chromosomal Aberrations on Human Cancer Risk: Result from Nordic and Italian Cohorts // Cancer Res. – 2004. – **64**. – P. 2258–2263.
6. Пілінська М. А., Дибський С. С. Спонтанний рівень аберацій хромосом, встановлений в лімфоцитах периферичної крові осіб різного віку за допомогою методу FISH // Цитологія і генетика. – 2004. – № 4. – С. 62–66.
7. Воробцова И. Е., Тимофеева Н. М., Богомазова А. Н., Семенов А. В. Возрастная зависимость частоты стабильных хромосомных aberrаций, определяемых методом FISH, в лимфоцитах здоровых доноров и лиц, подвергшихся неконтролируемому облучению в малых дозах // Рос. биомед. журн. – 2003. – **4**. – С. 125–127.
8. Stephan G., Pressl S. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from healthy subjects as detected in first cell division // Mutat. Res. – 1999. – No 446. – P. 231–237.
9. Tanaka K., Popp S., Fisher C. et al. Chromosome aberration analysis in atomic bomb survivors and thorostrast patients using two – and three-colour chromosome painting of chromosomal subsets // Int. J. Radiat. Biol. – 1996. – **70**, No 1. – P. 95–108.
10. Шеметун О. В., Пілінська М. А. Виявлення стабільних та нестабільних маркерів радіаційної дії у осіб, що зазнають хронічного опромінення, за допомогою методів рутинного та диференційного забарвлення метафазних хромосом // Цитологія і генетика. – 1998. – **32**, № 1. – С. 32–37.
11. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. – Київ, 2003. – 23 с.
12. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. – 1971. – **2**. – P. 971–972.
13. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. – Basel: Karger, 2005. – 130 p.
14. Erceg P., Milosevic D. P., Despotovic N., Davidovic M. Chromosomal changes in ageing // J. Genetics. – 2007. – **86**. – P. 277–278.
15. Шеметун О. В. Частота хромосомних аберацій в післячорнобильський період у осіб, які мешкають у м. Києві // Цитологія і генетика. – 1998. – **32**, № 1. – С. 38–42.

O. O. Talan, O. V. Shemetun

The frequency of chromosome aberrations in persons of various ages in Kyiv

Cytogenetic examination of two healthy human groups (children 12–16 years old and adults 27–48 years old constantly lived in Kyiv and denied a deliberated contact with known and suspected mutagens) is carried out with the help of the G-banding analysis. The increased level of chromosome aberrations in the group of adults (2.51 ± 0.34 per 100 cells) has been established in comparison with the group of children (1.26 ± 0.28 per 100 cells) due to translocations and deletions.