

**20 ЛЕТ СПУСТЯ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧАЭС:  
ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

УДК 577.346:576.32/36:614.876:631.039.58

**КОМПЛЕКСНАЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИЦ,  
ПОСТРАДАВШИХ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС**

© 2006 г. И. Е. Воробцова\*, А. В. Семёнов

*Центральный научно-исследовательский рентгенорадиологический институт, Санкт-Петербург*

Цитогенетические исследования проведены на ликвидаторах последствий аварии на ЧАЭС, их детях, эвакуантах (взрослые и дети), “ветеранах подразделения особого риска”, подвергшихся облучению при различных радиационных авариях, испытании ядерного оружия и т.п. У экспонированных групп в отдаленные сроки повышен по сравнению с нормой уровень нестабильных и стабильных (FISH) хромосомных aberrаций, частота микроядер в лимфоцитах и эритроцитах, частота HPRT-мутаций, снижена функциональная полноценность генома, что проявляется в его нестабильности, повышенной радиочувствительности *in vitro*, в ускоренном накоплении транслокаций с возрастом. Наблюдается положительная связь между уровнем хромосомных aberrаций, выявляемых рутинным методом, и частотой сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных заболеваний в исследованных выборках. На основании результатов анализа более 40000 лимфоцитов, проведенного восемь лабораториями, построены *in vitro* калибровочные кривые доза-эффект для дицентриков в диапазоне доз 0–100 сГр. Показано, что при общем фракционированном облучении онкопациентов (ежедневно в дозе 11.5 сГр до суммарной дозы 57.5 сГр  $\gamma$ -излучения) частота дицентриков на единицу дозы оказывается меньшей, чем при облучении крови тех же больных *in vitro*. По транслокациям различия между *in vivo* и *in vitro* облучением лимфоцитов не выявлено.

*Человек, облучение, лимфоциты, хромосомные aberrации, дозовая зависимость in vitro и in vivo, геномная нестабильность, возраст, заболеваемость.*

Использование в 20-м веке ионизирующей радиации в военных, промышленных и медицинских целях привело к повышению радиационной нагрузки на отдельные контингенты людей. Различные аварийные ситуации еще больше увеличили радиационный фон планеты и массовость облучения людей, что потребовало прогнозов в отношении возможных отдаленных медико-биологических и генетических эффектов для человеческой популяции. Последствия действия на человека ионизирующей радиации в относительно больших дозах достаточно хорошо изучены. Однако большинство радиационных воздействий от источников техногенного характера характеризуются малыми дозами и мощностями доз. В этом случае трудно оценить риск негативных эффектов для здоровья человека с помощью прямых эпидемиологических наблюдений. Изучение нарушений, которые возникают в клетках в ответ на такое облучение, становится весьма актуальным, так как оно позволяет понять начальные этапы процессов, приводящих в дальнейшем к развитию опухолевых и неопухолевых форм отдаленной лучевой патологии, а также возникно-

ванию предрасположенности к этим состояниям у потомства облученных родителей.

При слабых радиационных воздействиях существенную роль в развитии соматической патологии приобретает индивидуальная генетическая структура, которая, в конечном итоге, определяет и индивидуальный риск развития болезни или снижения качества жизни. Знание начальных этапов радиационного повреждения и генетических факторов, способствующих или препятствующих их прогрессу в патологию тканей и органов, даст возможность более обоснованно формировать группы риска в популяциях людей, подвергшихся низкодозному облучению, а также разрабатывать меры защиты.

А priori понятно, что повреждения ДНК не могут не отражаться на функциях клетки, ее жизнеспособности, а следовательно, и на полноценности тканей и, в конечном итоге, на состоянии здоровья. Процесс трансформации различных радиационных нарушений ДНК в опознаваемую патологию на уровне организма, будучи очень длительным и не 100-процентно вероятным, изучен недостаточно. Различные виды радиационных повреждений ДНК могут вызвать разные клеточные эффекты: гибель, генетическую нестабильность, изменение пролиферативных потенций, адаптивную реакцию устойчивости к последующим повреждениям

\*Адресат для корреспонденции: 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, Ленинградская ул., 70/4, ЦНИРРИ МЗиСР РФ; тел.: (812) 596-87-23; факс (812) 596-67-05; e-mail: radgen@IV9171.spb.edu

и т.д. Комплексная и мониторинговая оценка состояния и функциональной полноценности клеточного генома людей, подвергшихся низкодозному облучению, представляется продуктивным подходом к оценке потенциальной опасности этого воздействия для самих облученных людей и для их потомства.

В лаборатории радиационной генетики Центрального научно-исследовательского рентгено-радиологического института МЗиСР РФ г. Санкт-Петербурга с 1986 г. проводятся исследования цитогенетических эффектов у лиц, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС и их значимости в развитии отдаленной соматической патологии. Обследованные лица представлены следующими контингентами: ликвидаторы последствий аварии (за исключением перенесших острую лучевую болезнь); дети ликвидаторов, рожденные после участия родителей в работах по ликвидации последствий аварии; лица, эвакуированные в Санкт-Петербург с радиационно-загрязненных территорий. Кроме того, обследование проходили люди, отнесенные к подразделению “ветераны особого риска”, подвергшиеся радиационному воздействию при испытаниях ядерного оружия, захоронении ядерных отходов, радиационных авариях, в период работы на ядерных предприятиях и службы на атомных подводных лодках. Параллельно обследовались лица, не имевшие профессионального или случайного контакта с ионизирующими излучениями, и их дети (негативный контроль), а также дети онкологических больных, до зачатия ребенка проходивших курсы радио- и химиотерапии (позитивный контроль). Формирование выборок осуществлялось на базе Санкт-Петербургского диспансерного отделения профессиональной патологии ТМД № 20, областной Клинической больницы, Клинической больницы при Санкт-Петербургской педиатрической медицинской академии.

Исследования проводились по следующим основным направлениям.

1. Характеристика состояния хромосомного аппарата по частоте нестабильных хромосомных aberrаций (ХА), микроядер (МЯ), стабильных ХА, частоте GPA и HPRT-мутаций в клетках крови.

2. Функциональная оценка стабильности генома лимфоцитов по их чувствительности к мутагенному воздействию *in vitro* и по возрастной динамике накопления стабильных ХА.

3. Связь степени поврежденности генома с риском развития соматической патологии.

4. Исследования прикладного характера, направленные на верификацию поглощенных доз: построение кривых доза-эффект при облучении лимфоцитов *in vitro* и сопоставление зависимос-

тей доза-эффект при облучении лимфоцитов человека *in vitro* и *in vivo*.

Часть исследований осуществляли в рамках международных проектов: “Radiation genotoxicity from Chernobyl accident” (США, Ливерморская национальная лаборатория им. Лоуренса), “Biological dosimetry for persons irradiated by the Chernobyl accident” (КЕС/СНГ), а также отечественных программ: “Комплексная экологическая программа исследований последствий аварии на ЧАЭС” и “Дети Чернобыля”.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Обследованные группы: ВК – взрослый контроль (20–85 лет), ДК – детский контроль (2–18 лет), ЛК – ликвидаторы (24–66 лет), ДЛ – дети ликвидаторов (0.5–7 лет), ВЭ – взрослые эвакуированные (26–45 лет), ДЭ – дети эвакуированные (2–19 лет), ВТ – ветераны подразделения особого риска (48–76 лет), ДБ – дети онкопациентов, рожденные после радио- и химиотерапии (3–13 лет). На каждого обследуемого заполнялась персональная анкета, включавшая в себя кроме паспортных данных сведения о характере, времени и месте работы, поглощенной дозе (ЛК, ВТ), месте и сроках проживания на загрязненных территориях (ВЭ, ДЭ), дате работы родителей при ликвидации последствий аварии на ЧАЭС (ДЛ), о заболеваниях, рентгенодиагностических процедурах, лекарственной терапии (для всех групп), о вредных привычках – курение, алкоголь (ЛК, ВТ, ВЭ, ВК), о сроках и характере лучевой и химиотерапии у родителей (ДБ).

В исследованиях прикладного характера, имевших целью построение кривых зависимости доза-эффект для частоты нестабильных (дицентрики) и стабильных (транслокации) хромосомных обменов, использовали кровь трех здоровых доноров. Для сравнения зависимостей от дозы выхода хромосомных aberrаций при облучении лимфоцитов *in vivo* и *in vitro* использовали кровь пяти онкопациентов, взятую у них до начала противоопухолевого лечения, а также после каждого сеанса тотального облучения. Подробная характеристика здоровых доноров и пациентов содержится в работах [1–4].

*Культивирование лимфоцитов и приготовление хромосомных препаратов.* Для культивирования лимфоцитов, снятия культуры и приготовления метафазных препаратов использовали стандартный протокол. Для контроля клеточного цикла, т.е. выявления метафаз первого митоза, лимфоциты культивировали в присутствии BrdU (9.23 мкг/мл), препараты обрабатывали раствором Hoechst (0.5 мкг/мл), облучали ультрафиолетовым светом при 50°C, промывали в буфере и окрашивали 6% краской Giemsa (FPG-метод) [5, 6].

*Приготовление микроядерных препаратов.* Для приготовления микроядерных препаратов лимфоцитов кровь культивировали 72 ч, за 24 ч до снятия в культуру вводили цитокалазин В (6 мкг/мл). Гипотонию проводили в охлажденном 0.55% KCl в течение 1 мин 15 с при температуре 4°C. После центрифугирования (1000 об/мин) трехкратно зафиксированную в смеси метанол/ледяная уксусная кислота суспензию раскапывали на охлажденные влажные стекла, высушивали на воздухе и окрашивали 3%-ной краской Giemsa.

Для анализа микроядер в эритроцитах готовили мазки цельной крови, высушивали на воздухе, фиксировали в 96%-ном этиловом спирте и окрашивали 2% краской Giemsa.

*Флуоресцентная гибридизация in situ.* Подробное описание используемой процедуры флуоресцентной in situ гибридизации (FISH-метод) представлено в работах [4, 7]. В качестве хромосом-мишеней, как правило, использовали 1, 4 и 12 хромосомы. Часть препаратов гибридизировали с прямо меченными флуорохромом Spectrum Orange ДНК зондами к 1, 2 и 4 хромосомам или с прямо меченными FITC (1, 2, 3 хромосомы) и Texas Red (4, 5, 6 хромосомы) ДНК-зондами. Эти препараты готовили и анализировали в Ливерморской национальной лаборатории им. Лоуренса (ЛНЛЛ) в рамках совместного российско-американского проекта [8]. В исследованиях прикладного характера использовали меченые ДНК зонды к хромосомам 1, 4, 8 и панцентромерные зонды фирмы Cambio (UK), иммунохимическое выявление которых проводили в соответствии с рекомендованным протоколом.

*Микроскопический анализ препаратов.* На препаратах, приготовленных для рутинного цитогенетического анализа, регистрировали дицентрические и кольцевые хромосомы, парные и одиночные фрагменты в метафазах, содержащих  $46 \pm 1$  хромосом. Микроядра в двуядерных лимфоцитах идентифицировали согласно общепринятым критериям [9] при просмотре 1000–2000 двуядерных клеток. Микроядра в эритроцитах определяли как небольшие, округлые, густо окрашенные структуры. На препарате просматривали не менее 300 полей зрения, перекрытых рамкой, в которую помещалось около 100 клеток, т.е. суммарно анализировали примерно 30000 эритроцитов. Микроскопический анализ проводили на световых микроскопах при увеличении  $\times 900$ – $1000$ . Анализ препаратов для учета стабильных хромосомных aberrаций проводили на флуоресцентном микроскопе "AxioPlan" (Carl Zeiss) при увеличении  $\times 1000$ , используя триплетный фильтр, позволяющий одновременно наблюдать зеленую (FITC) красную (Texas-Red) и желтую флуоресценцию (FITC + Texas-Red). Анализировали только метафазы первого митоза,

содержащие шесть окрашенных хромосом, общее количество хромосом в клетке не подсчитывали. Кроме реципрокных (полных) и терминальных (неполных) транслокаций регистрировали инсерции, дицентрики и ацентрики (одноцветные и двуцветные), а также комплексные ХА. Геномная частота событий определялась делением количества наблюдаемых aberrаций на клеточный эквивалент. Клеточный эквивалент рассчитывали по формуле:  $N \times 2.05f_p(1 - f_p)$  [10], где  $N$  – число подсчитанных клеток,  $f_p$  – доля окрашенного генома.

*Мутационные тесты.* Методы учета GPA-мутаций в эритроцитах и HPRT-мутаций в лимфоцитах, использовавшиеся в качестве показателей генотоксичности Чернобыльской аварии в ЛНЛЛ при обследовании ликвидаторов и контрольных доноров, подробно описаны в работе [8].

*Облучение крови in vitro.* При оценке стабильности генома донорскую кровь облучали in vitro  $\gamma$ -излучением  $^{137}\text{Cs}$  в дозе 150 рад (мощность дозы 30 сГр/мин). Для построения калибровочных кривых доза–эффект кровь здоровых доноров облучали в дозах 10, 25, 50, 75 и 100 сГр  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  (мощность 50 сГр/мин) [1] или в дозах 10, 25, 30, 40, 50, 75, 100 и 150 сГр  $\gamma$ -излучения  $^{137}\text{Cs}$  (мощность дозы 37 сГр/мин) [2].

Для сравнения дозовых зависимостей выхода ХА при in vivo и in vitro облучении лимфоцитов кровь онкопациентов, взятую до лечения, облучали в дозах 10, 20, 30, 40, 50 сГр или 8, 16, 24, 32, 40 сГр  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  (мощность дозы 2 сГр/мин).

*Общее облучение пациентов.* До начала локальной лучевой терапии больные получали общее облучение в разовой дозе 11.5 сГр  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  до суммарной дозы 57.5 сГр (мощность дозы составляла 0.95–1.23 сГр/мин). Интервал между сеансами облучения варьировал от 1 до 3 сут. Методика тотального облучения была разработана в ЦНИРРИ МЗиСР РФ и используется при неоперабельных формах рака [11, 12]. До начала общего облучения и после каждого сеанса у больных забирали кровь и готовили хромосомные препараты, как описано выше. Более подробное описание условий облучения пациентов и их крови in vitro можно найти в работах [3, 4].

*Статистическая обработка результатов.* Для оценки достоверности различий использовали  $t$ -критерий Стьюдента, точный критерий Фишера и критерий  $\chi^2$ . Регрессионный анализ данных производили с использованием компьютерных программ Poisson Iteratively Reweighed Least Squares и Statistica for Windows 6.0.

**Таблица 1.** Количество хромосомных aberrаций (на 100 клеток), выявленных рутинным методом, у людей различных групп

Группа	Дети			
	ДК	ДЭ	ДЛ	ДБ
Число обследованных	52	64	60	15
Число клеток	9826	11853	12495	2672
Аберрантные клетки	1.67 ± 0.13	2.51 ± 0.14**	2.30 ± 0.13**	2.66 ± 0.31**
Всего aberrаций	1.71 ± 0.13	2.57 ± 0.15**	2.41 ± 0.14**	2.73 ± 0.32**
Дицентрики и кольца	0.06 ± 0.02	0.14 ± 0.03**	0.07 ± 0.02	0.11 ± 0.06
Двойные фрагменты	0.67 ± 0.08	0.79 ± 0.08	0.86 ± 0.08	0.97 ± 0.19
Одиночные фрагменты	0.92 ± 0.10	1.56 ± 0.11**	1.42 ± 0.11**	1.65 ± 0.25**
Группа	Взрослые			
	ВК	ВЭ	ЛК	ВТ
Число обследованных	93	19	174	22
Число клеток	17438	3730	32605	5477
Аберрантные клетки	2.03 ± 0.11	2.71 ± 0.27*	2.59 ± 0.09**	3.54 ± 0.25**
Всего aberrаций	2.14 ± 0.11	2.73 ± 0.27*	2.70 ± 0.09**	3.76 ± 0.26**
Дицентрики и кольца	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.06	0.17 ± 0.02*	0.55 ± 0.10**
Двойные фрагменты	0.94 ± 0.07	1.07 ± 0.17	1.30 ± 0.06**	1.42 ± 0.16**
Одиночные фрагменты	0.97 ± 0.07	1.42 ± 0.19*	1.12 ± 0.06	1.55 ± 0.17**

Примечание. ДК – дети контроль, ДЭ – дети эвакуированные, ДЛ – дети ликвидаторов, ДБ – дети больных, ВК – взрослые контроль, ВЭ – взрослые эвакуированные, ЛК – ликвидаторы, ВТ – ветераны подразделения особого риска. Отличия от контроля: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  ( $t$ -критерий Стьюдента).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Характеристика цитогенетического статуса пострадавших в результате аварии на ЧАЭС и других нештатных радиационных ситуациях*

Данные о частоте нестабильных ХА у разных групп обследованных взрослых и детей представлены в табл. 1. Видно, что все экспонированные группы характеризуются достоверно более высоким уровнем различных типов ХА по сравнению с соответствующим контролем. Частота дицентриков повышена у тех групп лиц, которые испытали непосредственное облучение. Исключением является группа ВЭ – самая малочисленная из всех, что, возможно, и не позволило объективно оценить уровень этих ХА в этой группе. Наиболее высокая частота дицентриков и колец наблюдается у “ветеранов подразделения особого риска”. По-видимому, дозы облучения у этих людей были значительными, поскольку даже спустя несколько десятилетий у них сохраняется высокая частота нестабильных хромосомных обменов. Доля людей, имеющих обменные хромосомные aberrации, во всех экспонированных группах оказалась повышенной по сравнению с контрольной группой (23.3% vs. 12.9%,  $p < 0.05$ , критерий  $\chi^2$ ). Полученные результаты совпадают с данными работ других авторов, также обнаруживаю-

щих повышенный уровень дицентриков и колец у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и других облученных когорт в отдаленный период после лучевого воздействия [13–18].

Лица, подвергавшиеся облучению на презиготической стадии развития (ДЛ и ДБ), отличаются повышенным по сравнению с соответствующим контролем (ДК) уровнем одиночных фрагментов. То же самое наблюдается и в других экспонированных группах, хотя отличие от контроля не во всех случаях достоверно. Увеличение частоты одиночных фрагментов у разных чернобыльских контингентов отмечено в работах [19, 20]. Поскольку именно этот тип ХА характерен для спонтанного хромосомного мутагенеза, можно предположить, что он протекает интенсивнее, чем в норме, как у непосредственно облученных лиц, так и у детей облученных родителей из-за возникшей в результате радиационного воздействия нестабильности генома. Подтверждением этому служит и тот факт, что суммарная частота двойных и одиночных фрагментов у лиц групп ЛК, ВТ, ВЭ и ДЭ, имеющих дицентрики и кольца, оказалась достоверно более высокой, чем у людей этих же групп, в лимфоцитах которых такие ХА не были зарегистрированы ( $1.4 \pm 0.09$  vs.  $1.0 \pm 0.05$ ;  $p < 0.05$ ,  $t$ -критерий Стьюдента).

**Таблица 2.** Количество хромосомных aberrаций (на 100 клеток) у ликвидаторов 1986–1987 годов, обследованных в разные годы

Группа	Число обследованных	Возраст, годы	Число клеток	Число ХА	Дицентрики + центрические кольца	Парные фрагменты	Одиночные фрагменты
1	88	21–58	14350	$3.5 \pm 0.19^a$	$0.4 \pm 0.07^a$	$1.9 \pm 0.14^a$	$1.3 \pm 0.12^a$
2	73	23–48	11463	$2.2 \pm 0.14^b$	$0.2 \pm 0.04^b$	$1.0 \pm 0.09^b$	$1.0 \pm 0.09^b$
3	37	20–45	6132	$1.4 \pm 0.15$	$0.1 \pm 0.04$	$0.7 \pm 0.11$	$0.7 \pm 0.11$

Примечание. 1 – ликвидаторы 1986–1987 гг., обследованные в 1987 г., 2 – ликвидаторы 1986–1987 гг., обследованные в 1990–1992 гг., 3 – контрольные доноры.

<sup>a</sup> отличия от группы 2 –  $p < 0.05$  (*t*-критерий Стьюдента), <sup>b</sup> отличия от группы 3 –  $p < 0.05$  (*t*-критерий Стьюдента).

**Таблица 3.** Количество микроядер (на 1000 клеток) у людей разных групп

Клетки	Показатели	ДК	ДЭ	ВК	ВЭ
Лимфоциты	Спонтанный уровень	$8.11 \pm 0.16$ (19)	$9.04 \pm 0.12^*$ (43)	$11.12 \pm 0.22$ (12)	$22.11 \pm 0.30^*$ (11)
	Индукцированный <i>in vitro</i> (1.5 Гр)	$150 \pm 10$ (18)	$205 \pm 14$ (18)	–	–
Эритроциты	Спонтанный уровень	$0.01 \pm 0.002$ (24)	$0.07 \pm 0.006^*$ (22)	$0.04 \pm 0.003$ (30)	$0.08 \pm 0.006^*$ (25)

Примечание. ДК – дети контроль, ДЭ – дети эвакуированные, ВК – взрослые контроль, ВЭ – взрослые эвакуированные.

\* – отличия от контроля:  $p < 0.01$  (*t*-критерий Стьюдента), в скобках – число обследованных лиц.

Для ретроспективных дозиметрических исследований важно иметь представление о временной динамике частоты ХА. В табл. 2 представлены результаты анализа ХА у ликвидаторов, работавших в Чернобыле в 1986–1987 гг. и обследованных через разные промежутки времени: в 1987 г. – группа 1 и в 1990–1992 гг. – группа 2 [21]. Контрольная – 3-я группа состояла из людей, прошедших цитогенетическое обследование в лаборатории в эти же годы. Из таблицы видно, что в обеих группах ликвидаторов частота всех типов ХА повышена по сравнению с контролем. В то же время наблюдается достоверное падение уровня хромосомных повреждений по мере отдаления сроков анализа от момента работы в радиоактивной зоне. В ряде исследований у ликвидаторов также отмечается более высокий по сравнению с контролем уровень дицентриков через 4–6–10 лет после аварии [17, 22]. Частота фрагментов у людей, имеющих обмены, в группах 1 и 2 в 5 и 3 раза соответственно выше, чем в группе 3. В то же время частота этих же типов aberrаций у ликвидаторов, не имеющих обменных перестроек, значительно ниже, чем у ликвидаторов “с обменами”, практически одинакова у 1-й и 2-й групп и почти не отличается от контроля.

По данным Российского государственного дозиметрического регистра (РГДР) средние дозы облучения ликвидаторов в 1986 и 1987 гг. составили соответственно 0.17 и 0.13 Гр [23]. Это соответствует средним данным физической дозиметрии, рассчитанным на основании имевшейся ан-

кетной информации для обследованных групп: 0.17 и 0.18 Гр для ликвидаторов 1986 г. и 1987 г. соответственно. Была сделана попытка ретроспективной оценки доз, полученных ликвидаторами, на основании результатов цитогенетического анализа. Для определения коллективных доз использовали метод усечения распределения ХА по лимфоцитам к Пуассоновскому [24]. Для расчета коллективной дозы обе группы ликвидаторов были объединены, так как они не различались по сроку работы на ЧАЭС. Восстановленная частота ХА на острый период для них оказалась равной 4.78%, что соответствовало дозе облучения, рассчитанной по калибровочной кривой [25]  $0.20 \pm 0.05$  Гр. Таким образом, результаты трех оценок коллективной дозы, полученной ликвидаторами: по данным РГДР, по анкетной информации о физической дозе и по результатам цитогенетического анализа практически совпали.

В табл. 3 приведены сведения о частоте МЯ в лимфоцитах и эритроцитах тех групп лиц, которые обследовались по этому цитогенетическому показателю. Уровень МЯ как в лимфоцитах, культивируемых *in vitro*, так и в эритроцитах *in vivo* [26] повышен у взрослых и детей, находившихся в зонах радиоактивного загрязнения по сравнению с соответствующим возрастным контролем.

Результаты оценки уровня стабильных и нестабильных хромосомных обменов с помощью FISH-метода у людей различных групп, опубликованные в работах [27–29] представлены в табл. 4. Частота транслокаций во всех экспонирован-

**Таблица 4.** Количество обменных хромосомных аберраций (на 100 клеток), выявленных методом FISH у людей различных групп

Группа		Средний возраст, годы	Число обследованных	Количество		
				клеточных эквивалентов	транслокаций	дицентриков
Контроль	Взрослые	40.1 ± 4.2	134	93773	0.78 ± 0.03	0.14 ± 0.01
	Дети	11.3 ± 7.5	19	6851	0.16 ± 0.05	0.06 ± 0.03
Эвакуированные	Взрослые	38.3 ± 11.2	19	8537	1.38 ± 0.13*	0.15 ± 0.04
	Дети	14.6 ± 9.1	15	5286	0.62 ± 0.11*	0.13 ± 0.05
Ликвидаторы		42.1 ± 3.0	275	179199	1.08 ± 0.02*	0.18 ± 0.01*
Ветераны		61.3 ± 8.5	33	17393	2.41 ± 0.12*	0.25 ± 0.04*

\* Отличия от контроля:  $p < 0.05$  ( $t$ -критерий Стьюдента).

ных группах достоверно превышает соответствующие контрольные значения. У групп ЛК и ВТ наблюдается также достоверно более высокий уровень дицентриков. В работе [8] было показано, что облучение, связанное с ликвидацией последствий аварии на ЧАЭС, оказывает на частоту транслокаций больший эффект, чем курение и возраст. Следует отметить, что хотя в большинстве работ, выполненных FISH-методом у разных экспонированных групп, показано превышение над контролем уровня стабильных ХА в отдаленные сроки после облучения [8, 30, 31], в ряде исследований это не было обнаружено [32, 33].

Результаты мутационных тестов оказались неоднозначными: частота мутаций в HPRТ-локусе [8], в локусе Т-клеточного рецептора [34], уровень мутантных Т-хелперов [19] оказались повышенными по сравнению с контролем у лиц, испытавших пролонгированное облучение, в то же время частота GРА-мутаций в эритроцитах либо не изменялась [8, 34], либо также возрастала [35].

За почти два десятилетия, прошедшие после аварии на ЧАЭС, опубликовано огромное количество работ по цитогенетической и молекулярно-биологической оценке состояния генома у различных контингентов пострадавших. В самом общем виде можно констатировать, что в подавляющем большинстве исследований у этих людей, как и у других лиц, подвергшихся неконтролируемому облучению в малых дозах (Семипалатинск, Новая Земля, Южный Урал и др.), были обнаружены различные хромосомные и генные мутации с частотой, превышающей контрольный уровень. Одной из наиболее важных задач в настоящее время представляется систематизация всех имеющихся данных и их анализ с точки зрения репрезентативности выборок, адекватности контролей, вероятности вклада иных факторов (помимо радиационного) в наблюдаемые эффекты, сравнительной информативности разных мутационных тестов, их возможностей и ограничений для биологической

реконструкции поглощенных доз и формирования групп риска развития негативных биологических (медицинских) эффектов. Важным направлением дальнейших исследований на наш взгляд является мониторинговое обследование одних и тех же лиц с целью прослеживания временной динамики возникших у них в результате облучения нарушений генетического аппарата.

*Функциональная оценка состояния хромосомного аппарата лиц, пострадавших при радиационных авариях*

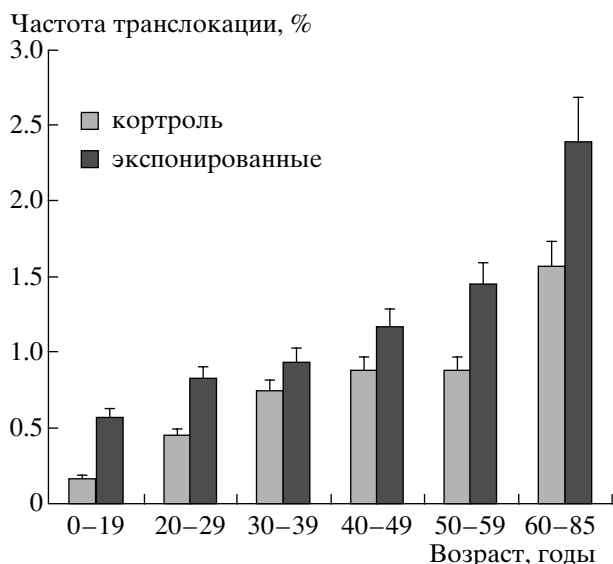
Повышенная частота одиночных фрагментов (типа ХА, характерного для спонтанного мутагенеза) у людей, подвергшихся в прошлом низкодозному облучению, дает основание предполагать, что для них характерна нестабильность клеточного генома. Для прямой оценки стабильности хромосом лимфоцитов кровь людей разных экспонированных групп облучали *in vitro* в дозе 150 сГр и оценивали частоту индуцированных ХА (табл. 5). Как у детей групп ДЛ и ДБ (презиготическое облучение), так и у лиц групп ДЭ и ВЭ (постнатальное облучение) повышена чувствительность хромосом лимфоцитов к дополнительному мутагенному воздействию радиации: уровень практически всех типов ХА в этих группах оказался выше, чем в соответствующих контрольных выборках. При этом распределения частот индуцированных ХА для людей экспонированных групп были сдвинуты в сторону больших значений этого показателя, что свидетельствует об однотипной реакции гиперчувствительности облученных клеток на дополнительное воздействие радиации *in vitro*. Аналогичные данные были получены и при использовании в качестве показателя радиочувствительности лимфоцитов *in vitro* частоты МЯ (табл. 3). Противоположная ситуация была характерна для группы ликвидаторов (см. табл. 5). Поскольку большинство людей этой группы до работы по ликвидации последствий аварии имели по роду своей про-

**Таблица 5.** Количество индуцированных *in vitro* хромосомных aberrаций (на 100 клеток) у людей различных групп

Группа	Дети				Взрослые		
	ДК	ДЭ	ДЛ	ДБ	ВК	ВЭ	ЛК
Число обследованных	32	45	52	13	45	12	114
Число клеток	4219	5366	5727	1661	5237	1350	14370
Аберрантные клетки	34.5 ± 0.9	37.9 ± 0.7**	41.7 ± 0.7**	35.0 ± 1.2*	34.5 ± 0.7	39.9 ± 1.3**	29.4 ± 0.4**
Всего aberrаций	40.3 ± 0.9	50.8 ± 0.7**	55.9 ± 0.7**	44.6 ± 1.2*	46.0 ± 0.7	51.0 ± 1.4**	37.6 ± 0.4**
Дицентрики и кольца	21.5 ± 0.8	27.6 ± 0.6**	31.2 ± 0.6**	24.6 ± 1.1*	21.8 ± 0.6	25.5 ± 1.2**	17.9 ± 0.3**
Двойные фрагменты	17.1 ± 0.7	16.7 ± 0.5	17.9 ± 0.5	16.7 ± 0.9	18.6 ± 0.5	19.9 ± 1.1	15.3 ± 0.3**
Одиночные фрагменты	1.70 ± 0.25	2.68 ± 0.22**	2.51 ± 0.21*	3.07 ± 0.42*	2.54 ± 0.22	2.59 ± 0.43	2.16 ± 0.12

Примечание. ДК – дети контроль, ДЭ – дети эвакуированные, ДЛ – дети ликвидаторов, ДБ – дети больных, ВК – взрослые контроль, ВЭ – взрослые эвакуированные, ЛК – ликвидаторы. Отличия от контроля: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  (*t*-критерий Стьюдента).

фессии контакт с источниками ионизирующей радиации, можно предположить, что у них возник своеобразный вариант так называемого “адаптивного ответа” клеток: “сработали” какие-то механизмы защиты от индукции геномной нестабильности радиационным воздействием на ЧАЭС. Интересно отметить, что у ликвидаторов последствий аварии не увеличена в отличие от других групп спонтанная частота одиночных фрагментов (см. табл. 1).



**Рис. 1.** Возрастная динамика частоты транслокаций, выявленных методом FISH в экспонированной и контрольной группах.

Еще одним подходом к оценке функционального состояния генома было сравнение возрастной динамики частоты стабильных ХА в экспонированных и контрольных выборках [27, 28]. Известно, что при старении увеличивается число геномных хромосомных и генных мутаций в клетках экспериментальных животных и человека. Это свидетельствует об ухудшении с возрастом функционирования механизмов репарации ДНК и/или увеличения степени нестабильности генома.

Наиболее подходящими структурными хромосомными нарушениями для изучения возрастной динамики являются стабильные хромосомные обмены (транслокации). Не будучи летальными для клеток, они не элиминируются в процессе клеточных делений и могут накапливаться с возрастом. Если низкодозное облучение приводит к снижению функциональных возможностей клеток (репарация, поддержание стабильности генома и др.), то возрастное накопление транслокаций в экспонированных группах будет, по-видимому, происходить быстрее. Из гистограммы, представленной на рис. 1, видно, что одинаковые с контролем по календарному возрасту облученные лица характеризуются более высокими частотами стабильных хромосомных обменов в лимфоцитах крови. Зависимости возраст-эффект в обеих группах удовлетворительно описываются квадратичной функцией и имеют вид  $Y = (0.21 \pm 0.08) + (0.32 \pm 0.05) \times X^2$  (для контрольной группы) и  $Y = (0.42 \pm 0.11) + (0.51 \pm 0.06) \times X^2$  (для экспонированных групп), где  $Y$  – частота транслокаций (на 100 клеток),  $X$  – возраст (годы). Сравнение  $\beta$ -коэффициентов показывает, что возрастные изменения у экспонированных лиц, оцениваемые по

**Таблица 6.** Цитогенетические характеристики лиц, отнесенных к разным квартилям в соответствии с индивидуальными значениями оцениваемых параметров

№ квартили	Спонтанная частота						Частота индуцированных in vitro			
	хромосомных аберраций, %		транслокаций, %		микроядер, ‰		хромосомных аберраций, %		микроядер, ‰	
	число человек	$M \pm SE$	число человек	$M \pm SE$	число человек	$M \pm SE$	число человек	$M \pm SE$	число человек	$M \pm SE$
1	116	$0.64 \pm 0.04$	119	$0.19 \pm 0.01$	20	$2.85 \pm 0.33$	67	$25.7 \pm 0.5$	20	$82.8 \pm 5.6$
2	118	$1.76 \pm 0.02$	121	$0.59 \pm 0.01$	21	$6.01 \pm 0.18$	71	$33.7 \pm 0.2$	21	$119.1 \pm 1.8$
3	117	$2.89 \pm 0.03$	119	$1.01 \pm 0.01$	22	$9.60 \pm 0.27$	61	$38.8 \pm 0.2$	19	$160.3 \pm 3.2$
4	104	$5.24 \pm 0.14$	119	$2.23 \pm 0.09$	21	$20.57 \pm 1.54$	65	$48.2 \pm 0.7$	20	$224.7 \pm 7.5$

уровню транслокаций в лимфоцитах, происходят быстрее, чем в норме, т.е. их “биологический возраст” оказывается большим, чем календарный. Интересно в связи с этим отметить, что по уровню транслокаций возраст больного с синдромом наследственного преждевременного старения был оценен в 55–65 лет, тогда как его календарный составлял 26 лет [36].

Исследований, посвященных оценке функциональной полноценности генома людей, подвергшихся облучению в малых дозах, значительно меньше, чем тех, где изучали те или иные мутационные эффекты. В то же время в последнее 15 лет появилось много работ, в которых в основном на клетках in vitro было показано, что радиация в малых дозах может вызывать различные функциональные сдвиги, в частности генетическую нестабильность [37]. Хронологически одной из первых работ по изучению нестабильности генома у людей, облученных на презиготической стадии развития, была наша работа, выполненная на детях онкологических больных, проходивших радио- и химиотерапию до зачатия ребенка [38], а ранее – на экспериментальных животных [39, 40]. Аналогичные результаты получены в настоящее время и другими авторами [19, 41, 42]. Связь нестабильности генома с риском канцерогенеза, продемонстрированная в ряде экспериментов на животных (см. ссылки [40]), позволяет рассматривать генетическую нестабильность в качестве прогностического маркера канцерогенеза у экспонированных людей. Очевидно, что дальнейшие исследования в этом направлении крайне необходимы.

К исследованиям функционального характера можно отнести и серию работ И.И. Пелевиной с соавторами [41], где оценивалась способность облученных в культуре клеток к адаптивному ответу (АО) – способу защиты клеток от экстремальных воздействий. Изменение способности развивать АО было продемонстрировано авторами и в лимфоцитах крови детей, проживающих в радиа-

ционно-загрязненных районах, и у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС.

Связь степени поврежденности генома с заболеваемостью. Некоторые представления о функциональной значимости тех или иных поврежденных генома может дать сопоставление показателей заболеваемости среди лиц с низким и высоким уровнем мутационных событий в клетках. В ряде исследований было показано, что у лиц с высоким уровнем ХА, выявляемых рутинным методом, повышен канцерогенный риск по сравнению с лицами, характеризующимися низкой частотой ХА. Метод оценки был основан на разбиении обследованной группы на квартили в соответствии с индивидуальными значениями частот ХА [43].

В настоящей работе этот же подход был применен для оценки связи индивидуального уровня тех или иных цитогенетических нарушений с риском возникновения различных соматических патологий (заболеваний). Для выявления людей с повышенным уровнем оцененных цитогенетических параметров все обследованные независимо от того, к какой когорте они относились (экспонированной или контрольной), были ранжированы в порядке возрастания значений каждого из параметров. Затем эти ряды были разбиты на 4 примерно равные части, называемые квартилями. Далее для каждой квартили определяли размах варьирования частот параметра. Лица с самыми низкими значениями параметра (25% выборки) составили первую квартиль, а с самыми высокими (25% выборки) – последнюю, четвертую квартиль. Результаты разбиения обследованных лиц на квартили по разным параметрам представлены в табл. 6. Суммарно из 891 обследованных человек 329 человек характеризовались высокими значениями оцененных параметров. Учитывая, что некоторые люди были обследованы по 2, 3, 4 или 5 параметрам, в общей сложности по результатам цитогенетического анализа, проведенного разными методами и их сочетаниями, 191 человек характеризовались высоким уровнем генетической нестабильности. При этом



**Таблица 7.** Коэффициенты линейно-квадратичных моделей доза-эффект для дицентриков (рутинный анализ)

№ лаборатории	$C \pm SE \times 10^{-4}$	$\alpha \pm SE \times 10^{-2}$	$\beta \pm SE \times 10^{-2}$
1	8.61 ± 6.43	3.08 ± 1.11	6.27 ± 1.60
2	9.56 ± 13.75	1.17 ± 2.03	6.60 ± 3.17
3	5.76 ± 6.98	1.32 ± 1.24	9.22 ± 1.98
4	4.91 ± 5.00	5.77 ± 1.31	2.07 ± 1.90
5	6.91 ± 7.26	-0.45 ± 0.88	9.58 ± 1.43
6	5.85 ± 5.78	4.56 ± 1.22	5.45 ± 1.79
7	5.06 ± 5.69	3.92 ± 1.26	8.91 ± 1.98
8	5.57 ± 7.56	1.33 ± 1.30	7.45 ± 2.04
Суммарно	4.21 ± 1.68	2.71 ± 0.36	6.95 ± 0.56

доля экспонированных среди них составила 70%. Анализ связи заболеваемости с уровнем генетической нестабильности был проведен на когорте взрослых лиц, обследованных по спонтанной частоте клеток с ХА, выявляемыми рутинным методом. Оценивали заболеваемость лиц с низким “Н” уровнем ХА (1-я квартиль) и лиц с высоким “В” уровнем ХА (4-я квартиль) по трем наиболее значимым системным патологиям – заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), сердечно-сосудистая патология (ССП) и острые респираторные инфекции (ОРВИ). В группе “Н” доля людей, страдающих заболеваниями ЖКТ и ССП, составила 23%, в группе “В” – 45.2% ( $p > 0.01$ , критерий  $\chi^2$ ). Различий по частоте ОРВИ между группами “Н” и “В” не было обнаружено. Аналогичный анализ, проведенный на профессионалах-атомщиках, также выявил положительную корреляцию между частотой ХА и риском возникновения различных заболеваний (Снигирева Г.П., личное сообщение).

В настоящее время нами проводится анализ связи заболеваемости с уровнем ХА в детской группе. Задача дальнейших исследований – изучение корреляции между показателями здоровья и другими цитогенетическими характеристиками и их комбинациями, а также выбор наиболее информативных – для прогноза возможного риска возникновения соматической патологии.

Следует отметить, что параллельно, но достаточно независимо от цитогенетических и молекулярно-биологических результатов накопилось большое количество сведений о медицинских последствиях различных радиационных аварий. Очевидна необходимость систематизации и анализа этих данных для того, чтобы можно было соотнести эффекты, наблюдаемые на клеточном уровне, с таковыми на более высоких уровнях организации (тканевом, организменном). Анализ связи уровня ХА с канцерогенным риском и возникновением других (нестохастических по природе) за-

болеваний представляется весьма перспективным подходом к выяснению роли радиационно-индуцированных повреждений генома в отдаленной соматической патологии. Необходимое условие для проведения подобных работ – создание рабочих групп с представительством врачей, обеспечивающих верифицированные диагнозы, и биологов, осуществляющих цитогенетические и молекулярно-биологические исследования.

Исследования, направленные на верификацию поглощенных доз. Традиционно в эпидемиологии для расчета рисков возникновения отдаленных (в основном стохастических) последствий облучения опираются на значения индивидуальных (или коллективных) поглощенных доз. При отсутствии достоверной физической дозиметрии оценка доз облучения производится с помощью дозозависимых биологических параметров, в частности, нестабильных хромосомных обменов (дицентриков) в лимфоцитах крови. Наблюдаемый или рассчитанный по остаточной частоте уровня дицентриков сопоставляется с кривой доза-эффект, полученной для этих aberrаций при облучении крови *in vitro*. В некоторых авторитетных отечественных и зарубежных лабораториях были получены такие кривые (см. ссылки [44]). Ими, как правило, пользуются и другие исследователи, занимающиеся реконструкцией поглощенных доз. В то же время, очевидно, что для корректности биодозиметрии, каждая лаборатория должна иметь собственную калибровочную кривую доза-эффект. Важно также иметь представление и о межлабораторной вариабельности параметров таких кривых. В рамках международного проекта ЕСР-6 (КЕС/СНГ) – “Biological dosimetry for persons irradiated by the Chernobyl accident” решались обе названные выше задачи.

На лимфоцитах здорового лабораторного донора (женщина 23 лет) была исследована зависимость доза-частота дицентриков, выявляемых при рутинной окраске в диапазоне 10–150 сГр  $\gamma$ -излучения  $^{137}\text{Cs}$ . Она удовлетворительно описывалась линейно-квадратичной функцией:  $Y = 0.07 \pm 0.33 \times 10^{-4} + (4.52 \pm 1.81) \times 10^{-2}D + (6.54 \pm 0.77) 10^{-2}D^2$ , где  $Y$  – частота дицентриков на клетку,  $D$  – доза в Гр [2].

Кровь, взятую у двух других здоровых доноров, облучали в лаборатории проф. А.В. Севанькаева (МНРЦ, Обнинск, РФ), метафазные препараты рассылали участникам проекта, которые их анализировали, просматривая на каждого донора 1000 клеток для доз 0, 10, 25 и 50 сГр и около 500 клеток для доз 75 и 100 сГр. Все данные обрабатывались статистически в NRPB (Chilton, UK) [45, 46].

В табл. 7 представлены результаты каждой лаборатории и суммарные – по всем участникам [45]. Видно, что параметры линейно-квадратич-

ных моделей, описывающих зависимости доза – эффект, в разных лабораториях существенно различаются между собой. Особенно это касается коэффициента при линейном члене уравнения, с помощью которого реконструируют дозы при пролонгированном низкодозном облучении людей. Тем не менее при объединении результатов всех участников, значения коэффициентов уравнений кривых зависимости доза–эффект достаточно близко совпали с опубликованными в литературе [44]. Это дает основание использовать кривую доза–частота дицентриков, построенную по суммарным данным анализа более 40 000 клеток в качестве калибровочной для биодозиметрических оценок, по крайней мере, восьмью данными лабораториями.

Внедрение в цитогенетическую практику FISH-метода позволило регистрировать стабильные хромосомные обмены и использовать частоту этих ХА для верификации доз как в ранний, так и отдаленный период после лучевого воздействия. Результаты анализа лимфоцитов тех же доноров, облученных *in vitro*, при использовании FISH-метода четырьмя лабораториями представлены в табл. 8. Межлабораторные различия коэффициентов линейно-квадратичных уравнений дозовой зависимости для транслокаций оказались значительно большими, чем при рутинном анализе дицентриков. По-видимому, это связано с несколькими обстоятельствами: использованием разными лабораториями различных коктейлей хромосомспецифических ДНК-зондов, недостаточным количеством проанализированных клеток, разным количеством доноров, исследованных в каждой лаборатории. В то же время наблюдается достаточно хорошее совпадение параметров кривых доза–эффект, рассчитанных по суммарным данным для обоого типа обменных ХА: дицентриков (Giemsa) и транслокаций (см. табл. 7 и 8). Коэффициенты линейно-квадратичной модели доза–эффект для двуцветных дицентриков (FISH-анализ) по нашим данным (лаборатория № 7) оказались близкими с приведенными в табл. 7 и составили:  $C = (1.10 \pm 1.05) \times 10^{-4}$ ,  $\alpha = (3.82 \pm 1.73) \times 10^{-2}$ ,  $\beta = (8.93 \pm 2.59) \times 10^{-4}$ .

Следующим направлением наших биодозиметрических исследований явилось сопоставление зависимостей доза–эффект для дицентриков и транслокаций при облучении крови доноров *in vitro* и *in vivo*. Использование *in vitro* калибровочных кривых доза–эффект для реконструкции поглощенных индивидуальных доз ионизирующей радиации предполагает одинаковость цитогенетической реакции лимфоцитов на облучение *in vivo* и *in vitro*. Имеется лишь несколько работ, где проверялась правильность этого допущения при использовании крови онкологических больных, получавших общее облучение в сравнительно небольших дозах [47–49]. В этих работах зависимо-

**Таблица 8.** Коэффициенты линейно-квадратичных моделей доза–эффект для транслокаций (FISH-анализ)

№ лаборатории	$C \pm SE \times 10^{-3}$	$\alpha \pm SE \times 10^{-2}$	$\beta \pm SE \times 10^{-2}$
1	44.92 ± 23.77	-17.26 ± 15.53	33.42 ± 11.28
3	2.68 ± 1.91	2.08 ± 1.96	2.33 ± 2.47
6	5.55 ± 3.80	1.76 ± 4.21	11.98 ± 5.27
7	5.67 ± 3.88	6.41 ± 4.00	6.59 ± 5.29
Суммарно	5.60 ± 1.95	3.65 ± 1.96	7.73 ± 2.50

сти доза–эффект были определены в условиях однократного облучения лимфоцитов *in vivo*, аналогичных тем, которые применялись при облучении лимфоцитов *in vitro*. В то же время оценка дозы при фракционированном лучевом воздействии, имевшем место при Чернобыльской аварии, была бы более корректной при использовании калибровочных кривых, построенных при сходном характере облучения лимфоцитов *in vitro*. Однако это невозможно из-за неспособности лимфоцитов долго сохраняться живыми вне организма.

Калибровочной кривой для реконструкции индивидуальных доз в случае неконтролируемого фракционированного облучения в первом приближении могла бы служить кривая доза–эффект, построенная по результатам анализа хромосомных обменов у онкологических больных, подвергающихся тотальному фракционированному облучению в известных дозах до начала локальной лучевой терапии. Такие кривые были построены нами для дицентриков по данным FPG и FISH-анализа пяти пациентов, подвергавшихся ежедневному общему облучению в дозе 11.5 сГр до суммарной дозы 57.5 сГр [4]. Соответствующие зависимости были получены и при облучении *in vitro* в том же диапазоне доз крови больных, взятой у них до начала курса лучевой терапии.

В обоих случаях (*in vivo* и *in vitro*) линейная модель наилучшим образом описывала полученные данные. Если для транслокаций полученные зависимости доза–эффект практически не отличались, то для дицентриков (как в FPG, так и в FISH-анализе) эффективность облучения лимфоцитов *in vivo* оказалась меньшей, чем *in vitro* (рис. 2 и 3). Отсутствие разницы в ответе транслокаций на фракционированное (*in vivo*) и однократное (*in vitro*) облучение свидетельствует о том, что меньшую эффективность *in vivo* облучения лимфоцитов по сравнению с таковой *in vitro* в случае дицентриков вряд ли можно объяснить фракционированным характером общего облучения доноров. Скорее всего, это связано с элиминацией в течение 10–15-дневных-курсов общего облучения пациентов некоторой части предшествующих

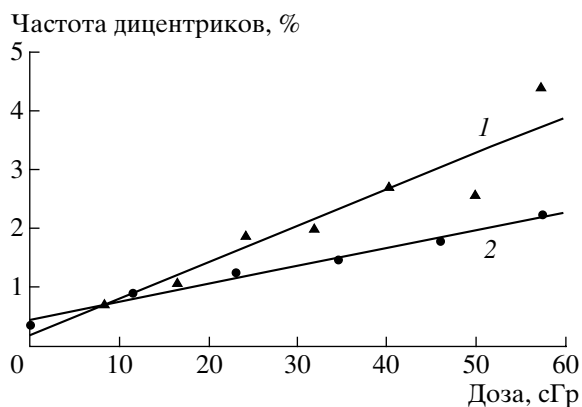


Рис. 2. Зависимости доза-эффект для дицентриков при облучении лимфоцитов *in vitro* и *in vivo* (FPG).

ков лимфоцитов, в которых возникли дицентрики – летальные для делящихся клеток. Подтверждением этому служит то обстоятельство, что при учете транслокаций лишь в так называемых “нестабильных” клетках (т.е. имеющих дицентрики и/или ацентрические фрагменты) их количество так же, как и дицентриков, оказалось меньшим при облучении лимфоцитов *in vivo* по сравнению с *in vitro* (предварительные данные).

На одном из онкопациентов, получивших дозу 80.5 сГр общего фракционированного облучения, была сделана попытка сравнить наблюдаемую у него частоту дицентриков с предсказываемой для этой дозы разными моделями доза-эффект (табл. 9). При расчете предсказываемой частоты для модели *in vivo* и модели 1 *in vitro* использовали коэффициент  $\alpha$  линейного члена линейного уравнения. Из таблицы видно, что наблюдаемая частота дицентриков ближе всего совпадает с предсказываемой по модели, полученной при общем облу-

Таблица 9. Наблюдаемая и предсказываемая разными моделями доза-эффект частота дицентриков у пациента, получившего общее фракционированное облучение в дозе 80.5 сГр

Доза, Гр	Частота дицентриков, %				
	наблюдаемая	предсказываемая			
		моделью <i>in vivo</i>	моделью <i>in vitro</i> (1)	моделью <i>in vitro</i> (2)	моделью <i>in vitro</i> (3)
0.80	3.00 ± 0.70	2.98	4.65	2.22	3.21

Примечание. Модель *in vitro* (1) – линейная, полученная при облучении лимфоцитов больных *in vitro* (см. рис. 2); модель *in vitro* (2) – объединенная линейно-квадратичная (см. табл. 7) при использовании линейного коэффициента; модель *in vitro* (3) – лабораторная линейно-квадратичная при использовании линейного коэффициента.

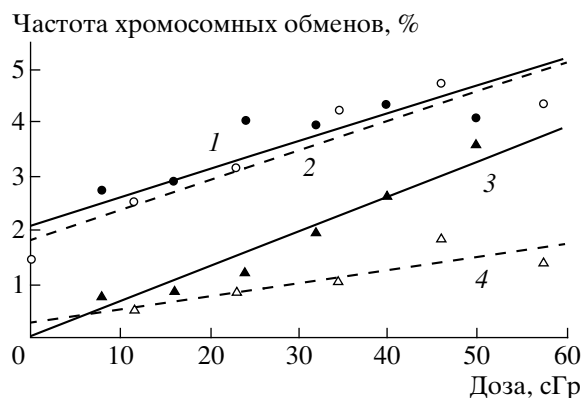


Рис. 3. Зависимости доза-эффект для транслокаций и дицентриков при облучении лимфоцитов *in vitro* и *in vivo* (FISH).

чении больных. При использовании же в качестве калибровочных разных моделей доза-эффект, полученных при облучении крови *in vitro*, предсказываемая частота дицентриков была выше, чем наблюдаемая. Это означает, что рассчитанные по *in vitro* калибровочным кривым значения поглощенных доз у лиц, испытывавших фракционированное (продолжительное) облучение, занижаются.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории, в разное время принимавшим участие в работе: Воробьевой М.В., Богомазовой А.И., Тимофеевой Н.М., Канаевой А.Ю., Петровой И.В. и Пюккенену А.Ю.

Работа частично выполнена при поддержке грантов РФФИ № 01-04-49118 и № 04-04-48816.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Севаньяев А.В., Анкина М.А., Завитаева Т.А. // Радиация, биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. № 5. С. 611–617.
2. Воробцова И.Е., Воробьева М.В., Богомазова А.Н. и др. // Радиация, биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. Вып. 2. С. 233–239.
3. Воробцова И.Е., Семенов А.В., Канаева А.Ю. и др. // Радиация, биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. № 6. С. 645–650.
4. Vorobtsova I., Darroudi F., Semyonov A. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 2001. V. 77. № 11. P. 1123–1131.
5. Perry P., Wolf S. // Nature. 1974. V. 251. P. 156–158.
6. Kulka U., Huber R., Mueller P. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1995. V. 68. P. 25–27.
7. Воробцова И.Е., Богомазова А.Н. // Радиация, биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 636–639.
8. Jones I.M., Galick H., Kato P. et al. // Radiat. Res. 2002. V. 158. P. 424–442.
9. Hall S.C., Wells J.J. // Radiol. Prot. 1988. V. 8. № 2. P. 000–000.

10. Lucas J.N., Awa A., Straume T. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1992. V. 62. № 1. P. 53–63.
11. Мусс В.Ф., Перелетов О.Н., Ларионова Л.Н., Владимирова В.А // Мед. радиология. 1992. № 3. С. 22–25.
12. Жербин Е.А., Чухловин А.Б. Радиационная гематология. М.: Медицина, 1989. 176 с.
13. Sevan'kaev A.V., Lloyd D.C., Braselmann H. // Radiat. Prot. Dosim. 1995. V. 58. № 2. P.85–91.
14. Lasutka J.R. // Mutat. Res. 1996. V. 350. P. 315–329.
15. Ривкин Д.Н., Царицина Л.П., Скворцова Г.В. // Гемат. и трансфузиология. 1996. Т. 68. № 7. С. 77–79.
16. Неронова Е.Г. Цитогенетические показатели неустойчивости генома у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленном периоде: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 1997.
17. Мазник Н.А., Винников В.А. // Цитология и генетика. 1997. Т. 31. № 6. С. 41–47.
18. Воробцова И.Е., Воробьева М.В., Богомазова А.Н., Пюккенен А.Ю. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 630–635.
19. Мельнов С.Б. Молекулярно-генетические и фенотипические эффекты антропогенных мутагенных воздействий у человека: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Минск: Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, 2004.
20. Семов А.Б., Иофа Э.Л., Шевченко В.А. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1994. Т. 34. Вып. 6. С. 865–871.
21. Воробцова И.Е., Михельсон В.М. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1994. Т. 34. № 6. С. 798–804.
22. Мельнов С.Б., Корытько С.С., Винник Л.М., Исайкина Я.И. // Сб. матер. 4-й Межд. конф. “Чернобыльская катастрофа: прогноз, профилактика, лечение и медико-биологическая реабилитация пострадавших”. Минск, 1995. С. 259.
23. Цыб А.Ф., Иванов В.К., Айрапетов С.А. // Мед. радиология. 1992. № 1. С. 46–51.
24. Моисеенко В.В. Применение методов биофизического моделирования для ретроспективной оценки доз по хромосомным абберациям в различные сроки после облучения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Обнинск: МРНЦ РАМН, 1993.
25. Севанькаев А.В. Радиочувствительность хромосом человека в митотическом цикле. М.: Энергоатомиздат, 1987. 160 с.
26. Fedortseva R.F., Kravtsov V.Yu., Belyakov O.V. et al. // Int. J. Pediatric Hematol./Onkol. 1997. V. 4. № 3. P. 295–299.
27. Воробцова И.Е., Такер Дж.Д., Тимофеева Н.М. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. № 2. С. 142–148.
28. Vorobtsova I., Semenov A., Timofeeva N. et al. // Mech. Ageing and Develop. 2001. V. 122. P.1373–1382.
29. Воробцова И.Е., Любимова Н.Е., Перова А.А., Семенов А.В. // Экол. генетика человека. 2004. Т. 2. № 2. С. 35–40.
30. Snigiryova G., Braselmann H., Salassidis K. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1997. V. 71. № 2. P.119–127.
31. Домрачева Е.В., Асеева Е.А., Дяченко Л.В., Ривкин Д.Н. // Тез. докл. 3 съезда по радиац. исслед. Москва, 14–17 октября 1997 г. Пущино, 1997. С. 48, 49.
32. Littlefield L.G., McFee A.F., Salomaa S.L. // Radiat. Res. 1998. V. 150. № 2. P. 237–249.
33. Granath F., Darroudi F., Auvinen A. et al. // Mutat. Res. 1996. V. 369. № 1–2. P. 7–12.
34. Bigbee W.L., Jensen R.H., Veidebaum T. et al. // Radiat. Res. 1997. V. 147. P. 215–224.
35. Saenko A.S., Zamulaeva I.A., Smirnova S.G. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1998. V. 73. № 6. P.613–618.
36. Воробцова И.Е., Канаева А.Ю., Петрова И.А. и др. // Цитология. 2004. Т. 46. № 12. С. 1030–1034.
37. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 3. С. 272–289.
38. Воробцова И.Е., Воробьева М.В., Корытова Л.И., Шуст В.Ф. // Цитология. 1995. Т. 37. № 5/6. С. 449–457.
39. Воробцова И.Е. // Радиобиология. 1987. Т. 27. № 3. С. 377–381.
40. Vorobtsova I.E. // Mutagenesis. 2000. V. 15. № 1. P.33–38.
41. Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антоцина М.М. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 2. С. 161–166.
42. Кузьмина Н.С., Сусков И.И. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 6. С. 741–745.
43. Hagmar L., Brogger A., Hansteen I.L. // Cancer Res. 1994. V. 54. P.2919–2922.
44. Lloyd D.C., Edwards A.A. // Radiation Induced Chromosome Damage in Man / Eds T. Ishihara, M.S. Sasaki. N.Y.: A.R. Liss, 1983. P. 23–49.
45. Biological Dosimetry for persons irradiated by the Chernobyl accident / Eds D.C. Lloyd, A.V. Sevan'kaev. EUR Report № 16532. Brussels: CEC, 1996.
46. Lloyd D.C., Edwards A.A., Sevan'kaev A.V. et al. // The radiological consequences of the Chernobyl accident / Eds A. Karaoglou, H. Desmet, G.N. Kelly and H.G. Menzel. Proc. of the 1 Int. Conf. Minsk, 18–20 March 1996. EUR Report № 16544. Brussels: CEC, 1996.
47. Buckton K.E., Langlands A.O., Smith P.G. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1971. V. 19. № 4. P.369–378.
48. Leonard A., Baltus L., Leonard E.D. et al. // Radiat. Res. 1995. V. 141. P. 95–98.
49. Schmid E., Bauchinger M. // Int. J. Radiat. Biol. 1974. V. 26. P. 31–37.

Поступила в редакцию  
21.11.2005

## Complex Cytogenetic Characteristic of People Suffered from Chernobyl Accident

I. E. Vorobtsova, A. V. Semyonov

*Central Research Institute of Radiology and Roentgenology, St. Perersburg, 197758 Russia,  
e-mail:radgen@IV9171.spb.edu*

A cytogenetic study was held on Chernobyl cleanup workers, on their children, on persons evacuated from contaminated areas (adult and children), on so named "veterans of particular risk" irradiated due to the accidents on the nuclear plant, testing of nuclear weapons etc. and on control donors. The yield of stable (FISH analysis) and of unstable chromosome aberrations, micronuclei in both lymphocytes and erythrocytes, HPRT mutations was found to be increased in exposed groups as compared to control ones. In children of liquidators and in evacuated children we observed genomic instability and increased in vitro chromosomal radiosensitivity. Acceleration of age accumulation of translocations characterized the exposed population in comparison with control group. People with the highest level of routine chromosome aberrations had cardiovascular and digestive diseases more often likely than those with the lowest level. In frame of International Project ECP-6 – "Biological dosimetry" the dose-responses for dicentric and translocations were constructed in dose range 0–100 cGy of  $\gamma$ -irradiation on the base of data of 8 laboratories. On cancer patients undergone whole-body  $\gamma$ -irradiation (every day at the dose 11.5 cGy to a total of dose 57.5 cGy) we constructed the dose-responses for the dicentric and translocations and compared them with the dose-responses for these aberration after the in vitro irradiation of lymphocytes of the same patients. For the dicentric the effectiveness of the in vivo irradiation was less than of the in vitro one. No differences were found for translocations.