

УДК 577.3

ОТДАЛЕННЫЕ БИОХИМИКО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЛАЗМЕ И ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЛЮДЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАДИАЦИИ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

© 2019 г. Г.Ф. Иваненко

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

E-mail: galiv03@rambler.ru

Поступила в редакцию 18.07.2019 г.

После доработки 18.07.2019 г.

Принята к публикации 21.08.2019 г.

Проведено исследование по оценке биохимических и цитогенетических показателей в лимфоцитах периферической крови у участников ликвидации аварии, подвергшихся внешнему и внутреннему облучению в интервале доз (0,1–70 сЗв), и детей, проживающих на разных по загрязненности радионуклидами территориях (1–20 Ки/км²) в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Изучение эффектов действия радиации низкой интенсивности проводилось при сравнительном анализе связи между индексом разрывов хроматид, показателем скорости мутагенеза в соматических клетках (лимфоцитах) и уровнем восстановленного глутатиона в плазме крови. У детей и участников ликвидации аварии, подвергшихся воздействию радиации в области малых доз (0,1–20 сЗв), установлено статистически значимое по сравнению с «контролем» повышение индекса разрывов хроматид в лимфоцитах и увеличение содержания восстановленного глутатиона в плазме крови. С увеличением дозы радиационного воздействия (20–70 сЗв) рост цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови у ликвидаторов и детей г. Чечерска (Гомельская область, Беларусь) сопровождается снижением водорастворимого антиоксиданта в плазме. Полученные результаты о связи уровня восстановленного глутатиона с основными показателями цитогенетического статуса представляют интерес для выявления отдаленных патологических состояний здоровья у людей, подвергшихся воздействию хронического ионизирующего излучения.

Ключевые слова: радиация, дети, ликвидаторы, глутатион, плазма крови, лимфоциты, хромосомные aberrации.

DOI: 10.1134/S0006302919060115

Процессы нормальной жизнедеятельности клеток сопровождаются генерацией высокорекреационных соединений – эндогенных форм кислорода. Поддержание необходимого их уровня контролируется не только скоростью генерации реакционных радикалов кислорода, но и системой антиоксидантной защиты. Одной из основных реакций водорастворимого антиоксиданта восстановленного глутатиона (GSH) является реакция со свободными радикалами с образованием тиольных радикалов и последующей их димеризацией до дисульфидов (GSSG) [1]. Восстановленный глутатион принимает участие во многих биологических процессах, включая синтез белков и ДНК, транспорт аминокислот, стимулирует активность ферментов и защиту клеток от повре-

ждений, вызванных активными формами кислорода. Увеличение уровня GSH повышает уровень антиоксидантной защиты, истощение запасов GSH приводит к увеличению перекисного окисления липидов, сопровождаемого изменением проницаемости мембраны и повреждением клеточных структур [2]. Несмотря на то что GSH является важным внутри- и внеклеточным антиоксидантом, он может проявлять и прооксидантные свойства. В процессах цепных радикальных реакций, инициируемых радиацией, образовавшиеся вторичные радикалы (супероксидный анион-радикал, пероксиды и активные тиольные радикалы) [3] могут вызвать повреждение ДНК и инициировать процессы, приводящие к дестабилизации генома (в виде хромосомных aberrаций, генных мутаций и др.). Имеющиеся на сегодняшний день многочисленные данные подтверждают взаимосвязь мутагенеза в соматических клетках с канце-

Сокращения: GSH – восстановленный глутатион, GSSG – дисульфидные группы или окисленный глутатион, ИРХ – индекс разрывов хроматид.

рогенезом, что, в свою очередь, позволяет вполне правомерно применять цитогенетические показатели крови в качестве прогностических тестов развития онкологической патологии.

Целью настоящей работы явился анализ связи между комплексом цитогенетических показателей лимфоцитов и уровнем глутатиона плазмы крови у детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, и участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование детей из трех регионов с разной степенью загрязненности почвы радионуклидами, в основном за счет ^{137}Cs после Чернобыльской катастрофы. В Чечерском районе Гомельской области Беларуси ($15\text{--}20 \text{ Ки/км}^2$) детей обследовали через пять лет после аварии, через шесть лет – в Мценском ($1\text{--}5 \text{ Ки/км}^2$) и через семь лет – в Болховском ($5\text{--}10 \text{ Ки/км}^2$) районах Орловской области. Через шесть лет после аварии было проведено обследование группы сотрудников РАН (Л12), выезжавших в г. Припять для участия в ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС с мая 1986 по 1987 г. Участники ликвидации аварии подверглись облучению в дозах от 0,1 до 70 сЗв. У детей Мценского района (в возрасте от новорожденных до 1500 дней, $n = 34$), Болховского района ($5\text{--}2000$ дней, $n = 28$) и Чечерского района ($0\text{--}730$ дней, $n = 27$), у участников ликвидации аварии ($21\text{--}64$ лет, $n = 116$) и взрослых, не подвергавшихся радиационному воздействию ($24\text{--}60$ лет, $n = 17$), определяли содержания глутатиона в плазме крови и анализ хромосомных aberrаций.

Определение содержания восстановленного и окисленного глутатиона в плазме крови было выполнено методом [4] в нашей модификации [5]. Все результаты выражали в мкмоль/л.

Цитогенетическое обследование участников ликвидации аварии проводили в лаборатории молекулярной биологии и цитогенетики Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. Анализ хромосомных aberrаций проводили на культуре лимфоцитов периферической крови человека с использованием стандартного метафазного метода учета aberrаций хромосом без кариотипирования [6]. Метод классического цитогенетического анализа позволил в качестве показателя скорости мутагенеза в соматических клетках (лимфоцитах периферической крови) использовать индекс разрывов хроматид (ИРХ), вычисленный как сумма одиночных (Ф_о) и удвоенного числа парных фрагментов (Ф_п),

учетверенного числа дицентриков (Дц) и колец (К_о) на 100 метафаз [5,7].

На экспериментальной модели исследовали состояние тиолдисульфидной системы в плазме крови у мышей линии BALB/c с опухолью Акатол. Одну групп мышей BALB/c с опухолью подвергли однократному облучению в дозе 2 Гр (с мощностью дозы 75 сГр/мин) ($n = 5$), вторую ($n = 5$) оставили без облучения. В контрольную группу были взяты животные без опухоли и без облучения ($n = 20$).

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Sigma Plot версии 8.0. Результаты выражали как среднее значение с ошибкой репрезентативности ($M \pm m$), для оценки достоверности различий использовали t -критерий Стьюдента для парных переменных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице представлены средние значения уровня GSH в плазме и частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови у детей, проживающих на загрязненных территориях, у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС и у группы сравнения. Полученные нами результаты свидетельствуют о статистически значимом увеличении содержания GSH у ликвидаторов аварии (до $24,8 \pm 0,1$ мкмоль/л по сравнению с показателями «контрольный» группы, равными $19,9 \pm 2,0$ мкмоль/л). У участников ликвидации аварии относительно группы сравнения повышены также значения средней частоты aberrантных клеток ($3,4 \pm 0,2\%$; $2,4 \pm 0,4\%$) и индекса разрывов хроматид ($4,8 \pm 0,3\%$; $2,9 \pm 0,5\%$). У детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, обнаружены нестабильные дицентрические хромосомы в лимфоцитах (Мценск – $0,10 \pm 0,05\%$; Болхов – $0,08 \pm 0,04\%$; Чечерск – $0,09 \pm 0,05\%$). Наличие у ликвидаторов аварии дицентрических ($0,11 \pm 0,03\%$) и кольцевых хромосом, которые являются общепринятыми маркерами эффекта радиационного поражения, указывает на наличие облучения. В таблице приведены литературные данные цитогенетических показателей (частота aberrантных метафаз, частота одиночных и парных фрагментов) для разных групп людей [8,9]. В контрольной группе, а также у работников Сибирского химического комбината, подвергшихся внешнему (11 сЗв) и внутреннему (15 сЗв) хроническому радиационному воздействию, показатели в среднем в два раза ниже, чем у участников ликвидации аварии с дозовыми нагрузками $17,9 \pm 1,9$ сЗв.

Необходимо отметить, что среднестатистические показатели не всегда отражают изменения, происходящие на индивидуальном уровне. Результаты индивидуальных изменений цитогенетических и биохимических показателей у детей и взрослых, подвергшихся радиационному воздей-

Средние значения уровня GSH в плазме и частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови обследованных людей

Группы людей (детей и взрослых)	GSH, мкмоль/л	Число метафаз	Частота aberrан-тных метафаз, %	Частота Фо, %	Частота Фп, %	Частота Дц, %	Частота Ко, %	Частота Дц + Ко, %	ИРХ, %
г. Мценск, 1–5 Ки/км ² (n = 34)	20,9 ± 1,7	8329	1,3 ± 0,1	0,64 ± 0,09	0,47 ± 0,08	0,10 ± 0,05 (n = 5)			2,0 ± 0,3
г. Болхов, 5–10 Ки/км ² (n = 28)	21,8 ± 1,7	3392	1,1 ± 0,2	0,70 ± 0,15	0,29 ± 0,08	0,08 ± 0,04 (n = 2)			1,5 ± 0,2
г. Чечерск, 15–20 Ки/км ² (n = 27)	23,1 ± 4,8	5191	1,8 ± 0,4	1,18 ± 0,33	0,42 ± 0,13	0,09 ± 0,05 (n = 4)	0,06 ± 0,04 (n = 2)	0,129 ± 0,07 (n = 5)	2,8 ± 0,6
Участники ликвидации аварии 0,1–70 сЗв, (n = 116)	24,8 ± 0,1	31139	3,4 ± 0,2	2,31 ± 0,14	0,86 ± 0,08	0,11 ± 0,03 (n = 21)	0,09 ± 0,02 (n = 21)	0,199 ± 0,03 (n = 41)	4,8 ± 0,3
Группа сравнения (жители Москвы), (n = 17)	19,9 ± 2,0	4524	2,4 ± 0,4	1,97 ± 0,38	0,34 ± 0,13	0,06 ± 0,03 (n = 3)			2,9 ± 0,5
Контроль дети (n = 17) [8]			1,1 ± 0,2						1,3 ± 0,1
Контроль взрослые (n = 19)			1,6 ± 0,2						
Региональный контроль (n = 77) [9]			1,5 ± 0,2	0,78 ± 0,11	0,48 ± 0,08	0,1 ± 0,03	0,05 ± 0,01		
Сочетанное облучение (n = 184)			2,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,59 ± 0,05	0,17 ± 0,03	0,06 ± 0,01		

Примечание. Сокращения в таблице: Фо – одиночные фрагменты, Фп – парные фрагменты, Дц – дицентрики, Ко – кольца, ИРХ – индекс разрывов хроматид.

ствию в зависимости от дозы, нами были представлены ранее [5]. Была показана сложная нелинейная зависимость, характеризующаяся отклонением от линейности в сторону повышения эффекта в диапазоне доз от 0,1 сЗв до 25 сЗв. Высокий уровень GSH (более 30 мкмоль/л) в плазме крови приблизительно у 20% обследованных лиц наблюдался в дозовом интервале до 20 сЗв. Содержание GSH (биомаркера «вреда») в плазме крови у отдельных индивидов достигает парадоксальных значений. В этом же интервале доз наблюдается повышение ИРХ в лимфоцитах. С увеличением дозы радиационного воздействия выше 20 сЗв ИРХ в лимфоцитах периферической крови продолжает повышаться, а содержание GSH в плазме крови снижается [5,7,10].

Изучение эффектов действия радиации низкой интенсивности в малых от 0,1 сЗв до 20 сЗв и больших от 20 сЗв до 70 сЗв дозах у чернобыльского контингента явилось результатом сравнительного анализа зависимости между индексом разрывов хроматид в соматических клетках (лимфоцитах) и уровнем восстановленного глутатиона в плазме крови.

Индивидуальная зависимость между ИРХ в лимфоцитах и содержанием GSH в плазме крови у детей, участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС и жителей г. Москвы («контроль») представлена на рис. 1а–в. Корреляционный анализ связи между ИРХ в лимфоцитах и уровнем GSH в плазме крови у детей, проживаю-

щих в районах с загрязнением почвы радионуклидами (1–20 Ки/км²) и ликвидаторов, подвергшихся хроническому внешнему и внутреннему облучению дозе от 0,1 до 70 сЗв после аварии на Чернобыльской АЭС, имеет разную направленность. При сопоставлении показателей индекса разрывов хроматид в лимфоцитах периферической крови с уровнем восстановленного глутатиона в плазме у детей, проживающих в Мценском (1–5 Ки/км²) и Болховском (5–10 Ки/км²) районах Орловской области, была обнаружена положительная зависимость ($r = 0,31, n = 62, P < 0,02$). Повышение содержания GSH в плазме крови у детей из этих районов наблюдается при значениях величины ИРХ от 0 до 6 на 100 клеток (рис. 1а).

Существенно меняется характер зависимости между цитогенетическими и биохимическими параметрами у детей Чечерского региона Гомельской области, проживающих в условиях хронического накопления радионуклидов в результате техногенной катастрофы. Связь становится более сложной, разветвленной на две части, однако уровень значимости между величиной ИРХ и уровнем GSH у детей оказался недостаточным. Среди детей, проживающих в Чечерском регионе, обнаружены индивиды с парадоксально высокими значениями GSH в плазме крови при значениях показателей ИРХ (до 6 на 100 клеток) (рис. 1б).

Сложная зависимость обнаружена и у ликвидаторов аварии. Так, между величиной ИРХ в лимфоцитах до 5 на 100 клеток и уровнем GSH в плазме крови свыше 30 мкмоль/л зависимость выявлена лишь на уровне тенденции ($r = 0,37, n = 10$) (рис. 1в). Повышение коэффициента корреляции между исследованными параметрами до статически значимых величин ($r = 0,21, n = 76, P < 0,05$) наблюдается при объединении экспериментальных данных для детей Мценского ($n = 34$), Болховского ($n = 28$), Чечерского регионов ($n = 4$) и ликвидаторов ($n = 10$). Это указывает на то, что у отдельных индивидов содержание GSH в плазме увеличивается при значениях ИРХ от 0 до 5 на 100 клеток (рис. 1а–в). Характер зависимости между ИРХ и содержанием GSH у участников ликвидации аварии меняется с повышением ИРХ в лимфоцитах периферической крови от 6 до 16 на 100 клеток. С ростом цитогенетических нарушений в лимфоцитах наблюдается достоверное снижение содержания глутатиона в плазме крови ($r = -0,49, n = 34, P < 0,01$) (рис. 1в).

Среди ликвидаторов, подвергшихся облучению радиацией низкой интенсивности, имеются индивиды, у которых показатели исследуемых систем не отличаются от показателей группы сравнения (жители Москвы). В эту группу вошли индивиды со значениями ИРХ в лимфоцитах периферической крови приблизительно до 5 на

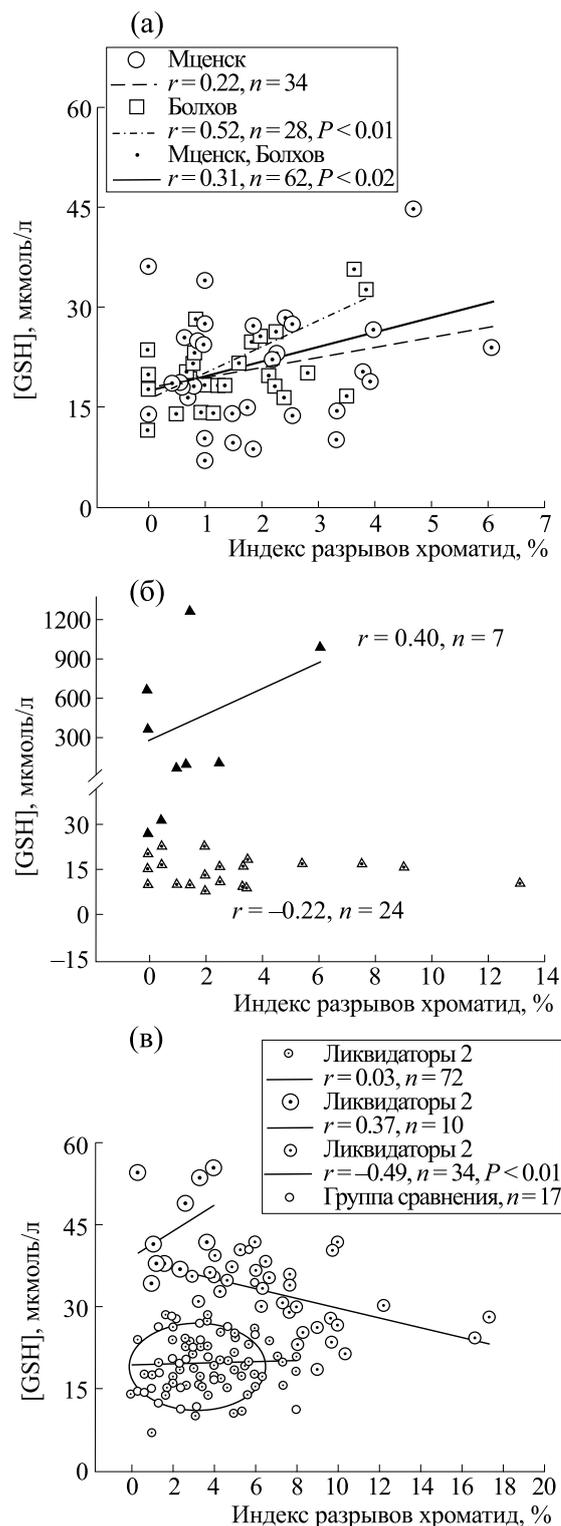


Рис. 1. Связь между индексом разрывов хроматид в лимфоцитах и содержанием GSH в плазме периферической крови у детей, проживающих в разных по загрязненности радионуклидами территориях – городах Мценск и Болхов (а), Чечерск (б), а также у участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС и жителей г. Москвы («контроль») (в).

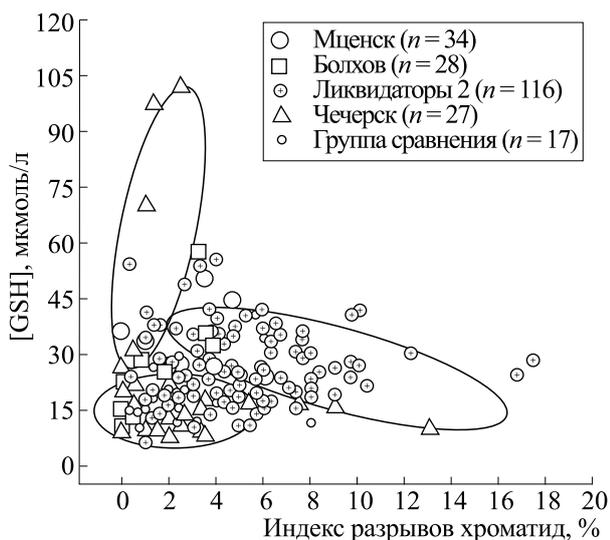


Рис. 2. Индивидуальная зависимость изменения содержания GSH в плазме от индекса разрывов хроматид у детей, проживающих в разных по загрязненности радионуклидами регионах (города Мценск, 1–5 Ки/км²; Болхов, 5–10 Ки/км²; Чечерск, 15–20 Ки/км²), а также у участников ликвидации аварии (0,1–70 сЗв) на Чернобыльской АЭС и жителей г. Москвы («контроль»).

100 клеток и содержанием GSH в плазме крови ниже 30 мкмоль/л (область на рисунке, выделенная эллипсом). Корреляционная зависимость между исследованными параметрами у этих людей отсутствует (рис. 1в).

Разная направленность (положительная и отрицательная) между содержанием GSH в плазме и величиной ИРХ в лимфоцитах крови у людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности, указывает на довольно высокую интенсивность мутационного процесса в соматических клетках и степень биохимических нарушений в постчернобыльский период.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для объяснения сложной зависимости между индексом разрывов хроматид как показателя скорости мутагенеза в соматических клетках (лимфоцитах периферической крови) и содержанием глутатиона в плазме мы объединили экспериментальные данные, полученные для всей популяции людей (рис. 2). Из рис. 2 видно, что приблизительно у 50% индивидов (дети и ликвидаторы), подвергшихся радиацией низкой интенсивности, показатели ИРХ в лимфоцитах и содержание GSH в плазме крови совпадают с показателями жителей Москвы. Две другие группы включают индивидов (до 25%) с показателями ИРХ до 5 на 100 клеток и повышенными значениями GSH (>30 мкмоль/л). При показателях ИРХ в лимфо-

цитах периферической крови от 5 до 17 на 100 клеток снижение содержания GSH в плазме наблюдается в основном у ликвидаторов и детей Чечерского региона.

Таким образом, в диапазоне структурных изменений хромосом в лимфоцитах периферической крови до 4–5 на 100 клеток происходит накопление GSH в плазме и снижение его содержания на фоне еще большего повышения ИРХ как показателя скорости мутагенеза в соматических клетках (лимфоцитах) у людей. Эти данные указывают на нарушение как антиоксидантного, так и цитогенетического статуса в популяции у людей в условиях хронического и внешнего, и внутреннего воздействия радиации низкой интенсивности (рис. 2).

Нарушения цитогенетического статуса соматических клеток сопровождаются изменением молекулярно-генетических и молекулярно-биохимических показателей периферической крови [11]. Было высказано предположение, что восприимчивость лимфоцитов периферической крови к хромосомному повреждению связана с антиоксидантными уровнями плазмы у лиц, подвергшихся профессиональному воздействию облучения. Однако авторы статьи не приводят значения дозовых нагрузок в процессе профессиональной деятельности у людей [12].

В литературе практически отсутствуют данные о связи специфических маркеров радиационного воздействия аберраций хромосомного типа (свободные парные фрагменты, ацентрические и центрические кольца) и хроматидного (одиночные фрагменты) типа в лимфоцитах периферической крови с содержанием глутатиона в плазме у детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, и участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС.

При выборе индекса разрывов хроматид в качестве показателя скорости мутагенеза в соматических клетках целесообразно было провести анализ корреляционной связи между уровнем глутатиона в плазме крови для индивидов всей популяции людей и основными нестабильными аберрациями хроматидного (одиночные фрагменты) и хромосомного типа (парные фрагменты, дицентрики + кольца) в лимфоцитах периферической крови.

На рис. 3 приведена зависимость изменения уровня глутатиона от частоты одиночных фрагментов в лимфоцитах у людей, подвергшихся внешнему и внутреннему облучению низкой интенсивности. Одиночные фрагменты являются наиболее распространенной формой аберрации хроматидного типа, встречаются в метафазных клетках как в «контрольной» группе лиц, так у людей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях. Статистически значи-

мое увеличение выхода aberrаций хроматидного типа в лимфоцитах крови и содержания GSH в плазме наблюдается у детей Мценского и Болховского районов и у 24-х участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС (рис. 3).

Максимальное содержание глутатиона при частоте одиночных фрагментов до 1 на 100 клеток обнаружено у четверых из 22-х детей, проживающих в Чечерском регионе. С увеличением частоты одиночных фрагментов до 9 на 100 клеток наблюдается тенденция к снижению содержания GSH в плазме у 18-ти детей. Большая вариабельность изученных показателей и небольшая выборка для детей Чечерского региона, проживающих на территории с высоким загрязнением почвы радионуклидами (15–20 Ки/км²) в результате Чернобыльской аварии, не позволила выявить достоверной зависимости. У жителей Москвы зависимость между частотой одиночных фрагментов и уровнем глутатиона отсутствует (рис. 3).

Повышение уровня хроматидных нарушений у детей и взрослых может быть обусловлено химическим загрязнением окружающей среды. Нельзя исключить также и влияния на генетический аппарат клеток постоянного в течение длительного времени воздействия излучения низкой интенсивности за счет радионуклидов, поступающих в организм человека из окружающей среды, например, с продуктами питания [13]. Несмотря на то что химические мутагены вызывают в основном повреждения хроматидного типа, их действие в конечном счете может сказаться и на уровне aberrаций хромосомного типа [14].

Возникновение генетической нестабильности у детей, постоянно проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами вследствие аварии на Чернобыльской АЭС, под влиянием малых доз ионизирующего излучения подтверждается рядом фактов. У детей родителей, подвергавшихся терапевтическому воздействию ионизирующей радиации по поводу опухолевых заболеваний, отмечено достоверное повышение уровня хроматидных фрагментов, хотя и чаще, чем в контроле, встречались дети с носителями сложных aberrаций обменного типа (дицентрики и кольца) [15].

Показано, что у облученных людей, в том числе у детей, повышена чувствительность хромосом лимфоцитов периферической крови к последующим мутагенным воздействиям *in vitro* [8].

Нестабильные хромосомные aberrации являются маркерами радиационного воздействия, поэтому проведено сравнение частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови (парных фрагментов, дицентриков и центрических колец) с содержанием глутатиона в плазме у детей и ликвидаторов (рис. 4а,б). Среди детей, перенесших хроническое лучевое воздей-

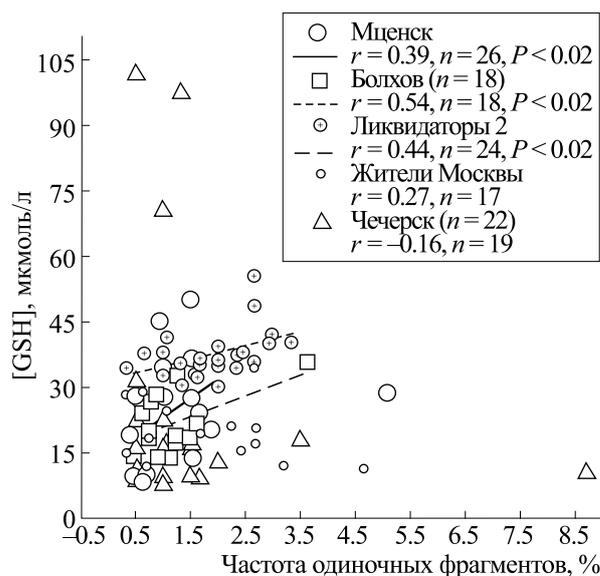


Рис. 3. Зависимость между частотой одиночных фрагментов в лимфоцитах крови и содержанием глутатиона в плазме у детей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами (Мценск, 1–5 Ки/км²; Болхов, 5–10 Ки/км²; Чечерск, 15–20 Ки/км²), а также у участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС (0,1–70 сЗв) и жителей Москвы.

ствии (Мценск, Болхов, Чечерск), у двенадцати человек частота парных фрагментов увеличена от 1 до 2,5%, а у семи детей частота дицентриков и колец повышена от 0,5 до 2%. Достоверная отрицательная зависимость наблюдается у 40 и 16 участников ликвидации аварии между частотой парных фрагментов ($r = -0,46; p < 0,01$), дицентриков и центрических колец ($r = -0,59; p < 0,01$) и содержанием GSH. С увеличением частоты парных фрагментов от 1 до 4,5% и дицентрических и кольцевых хромосом от 0,5 до 2,2% содержание GSH в плазме крови у 12 снижается приблизительно в два раза (рис. 4а,б).

Полученные данные свидетельствуют о сложной зависимости между содержанием GSH и частотой aberrаций хроматидного (одиночные фрагменты) и хромосомного обменного типа (дицентрические и кольцевые хромосомы) у индивидов в зависимости от интенсивности ионизирующей радиации.

Авторами работы [9] представлены результаты исследований частоты и спектра цитогенетических нарушений у работников Сибирского химического комбината, в процессе профессиональной деятельности подвергшихся сочетанному (внешнему и внутреннему) хроническому радиационному воздействию. Дозовая зависимость частоты хромосомных aberrаций у работников имеет нелинейный характер. Статистически значимое увеличение выхода aberrаций хроматид-

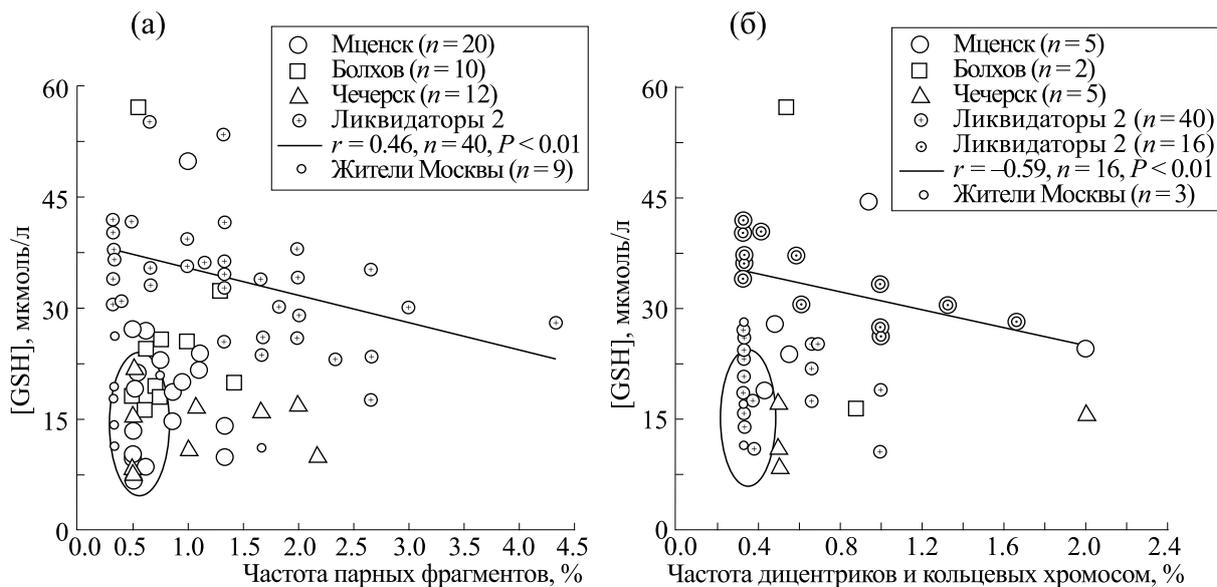


Рис. 4. Зависимость между частотой нестабильных хромосомных aberrаций — парных фрагментов (а) и дицентриков+колец (б) и содержанием глутатиона у детей и ликвидаторов, подвергшихся сочетанному облучению радиацией низкой интенсивности после аварии на Чернобыльской АЭС. Эллипсом отмечена физиологическая «норма».

ного типа отмечается, начиная с диапазона доз > 4–10 сЗв. Отдельно для количества дицентрических хромосом увеличение установлено в диапазоне доз > 10–20 сЗв на уровне $0,22 \pm 0,08$ на 100 клеток.

В результате многолетних наблюдений [16] у ликвидаторов аварии обнаружено увеличение носителей радиационных маркеров (дицентриков и кольцевых хромосом), превышающих контрольные значения ($0,21 \pm 0,02\%$ против $0,04 \pm 0,02\%$). Большинство из обследованных получили дозы до 25 сГр, у 30 человек были зафиксированы дозы от 25 сГр до 1 Гр.

Наблюдения за состоянием хромосомного комплекса лимфоцитов периферической крови показало повышение маркеров с 27 до 49% в расчете на одну клетку через 28 лет после аварии. Эти находки свидетельствуют о длительном сохранении генетических эффектов у облученных лиц в диапазоне малых доз [16].

Нами показана сложная нелинейная зависимость изменения содержания GSH в плазме у детей и взрослых в зависимости от дозы радиационного воздействия. При дозе от 25 сЗв до 150 сЗв мы наблюдали снижение содержания GSH в плазме крови у ликвидаторов, работавших в зоне аварии, и у участников ликвидации, а также у детей из Чечерского региона, проживающих на наиболее загрязненных территориях ($15–20 \text{ Ки/км}^2$) [10]. Так как между частотой парных фрагментов, дицентриков и центрических колец в лимфоцитах крови и содержанием GSH в плазме у участников ликвидации нами обнаружена

отрицательная корреляционная зависимость (рис. 4а,б), из этого следует, что увеличение радиационных маркеров происходит также при дозе свыше 20 сЗв. Подтверждением этому служат и литературные данные, представленные выше [9].

При низких дозовых нагрузках до 20 сЗв содержание глутатиона повышается (приблизительно у 20% из всех обследованных) у детей из разных регионов и ликвидаторов [10]. Увеличение содержания глутатиона в плазме крови наблюдается у детей и участников ликвидации аварии с повышением частоты одиночных фрагментов (рис. 3). У отдельных индивидов из всей обследованной популяции людей при частоте парных фрагментов приблизительно до 2% и хромосомных aberrаций обменного типа (дицентрики и кольца) до 1% содержание GSH в плазме крови увеличено в два раза относительно значений физиологической «нормы» (рис. 4 а,б).

Основываясь на результатах своих исследований и обобщая данные других авторов, Е.Б. Бурлакова с соавт. [17] отмечают, что зависимость эффекта от дозы радиации низкой интенсивности носит немонотонный, полимодальный характер. При малых и сверхмалых интенсивностях ионизирующее облучение обладает уникальной способностью в десятки раз увеличивать биологический эффект. Отход от физиологической нормы при низких дозах приводит к изменению (в большинстве случаев к увеличению) чувствительности к действию повреждающего фактора. В условиях воздействия малых доз радиации число создаваемых повреждений увеличивается строго

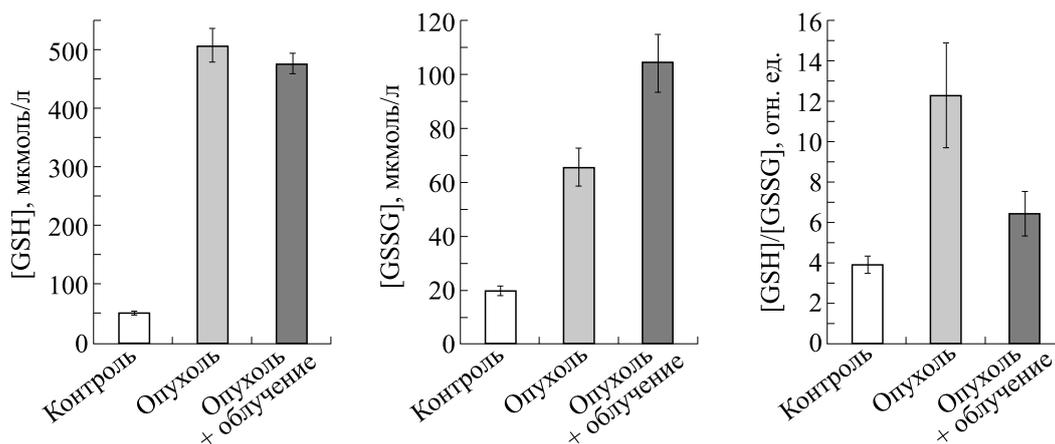


Рис. 5. Изменение содержания GSH, GSSG и GSH/GSSG в плазме крови мышей с опухолью Акатол до и после облучения.

пропорционально дозе (репарационные процессы отсутствуют и/или подавлены) [17].

В условиях генетической нестабильности у детей подросткового возраста, постоянно проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами (менее 2 Ки/км²) вследствие аварии на Чернобыльской АЭС, выявили дефицит фолиевой кислоты и витамина В₁₂ с повышением образования гомоцистеина в крови. Уровень гомоцистеина намного превышает допустимый порог, что свидетельствует о развитии тяжелых патологических процессов уже в юном возрасте [18].

При невозможности полноценного превращения гомоцистеина в цистеин развивается состояние гипергомоцистеинемии. Этот процесс является мультифакториальным с вовлечением генетических и негенетических аспектов метаболизма гомоцистеина. Биологические функции цистеина разнообразны и очень важны для организма. Реакционная способность цистеина резко возрастает, когда он находится в окружении двух других аминокислот – глутаминовой кислоты и глицина, образующих трипептид SH-глутатиона [1]. В плазме неутрилизированный гомоцистеин подвергается автоокислению с образованием перекиси водорода, супероксидных и гидроксильных радикалов. Цистеин и глутатион способны генерировать активные формы кислорода и становиться тиольными радикалами. Образовавшиеся вторичные радикалы в результате действия ионизирующей радиации приводят к повреждению ДНК, перестройке хромосомного аппарата, злокачественной трансформации, геномной нестабильности и клеточной гибели [3,19,20].

Усиление свободнорадикального окисления, вызванного действием радиации в малых дозах, ведет к ответной реакции одного из наиболее важных водорастворимого антиоксиданта, кото-

рым является восстановленный глутатион. Увеличение уровня GSH повышает уровень антиоксидантной защиты, истощение запасов GSH приводит к увеличению перекисного окисления липидов, сопровождаемому изменением проницаемости мембраны и повреждением клеточных структур. Несмотря на то что GSH является важным внутри- и внеклеточным антиоксидантом и принимает участие во многих биологических процессах, включая синтез белков и ДНК, транспорт аминокислот, стимулирует активность ферментов и защиту клеток от повреждений, вызванных активными формами кислорода [2,3], он может проявлять и прооксидантные свойства. В патогенезе злокачественной трансформации наблюдается повышение уровня GSH по сравнению с соответствующими нормальными клетками [21]. При продолжительном окислительном стрессе нарушение редокс-равновесия может вызвать переход клеток от покоя к неконтролируемой пролиферации, задержке роста или клеточной гибели [22]. Нарушение баланса между про- и антиоксидантным статусом приводит к развитию различных заболеваний, в частности к опухолевому росту (включая рак).

На мышцах-опухоленосителях изучали влияния радиации низкой интенсивности на содержание глутатиона в плазме крови. Были взяты двухмесячные контрольные животные ($n = 20$) линии BALB/c с перевитой солидной аденокарциномой Акатол до ($n = 5$) и после облучения ($n = 5$). Анализ данных, представленных на рис. 5, показал, что начальная стадия развития опухоли прямой кишки Акатол (шестые сутки) сопровождается увеличением содержания GSH (в 10 раз) в плазме крови у животных с опухолью ($507,8 \pm 27,4$ мкмоль/л против $50,5 \pm 2,1$ мкмоль/л) и трехкратным увеличением содержания GSSG ($65,4 \pm 7,1$ мкмоль/л против $19,3 \pm 1,6$ мкмоль/л), а также повышением со-

отношения GSH/GSSG ($12,3 \pm 2,6$ отн. ед. против $3,9 \pm 0,4$ отн. ед.) относительно контрольных животных соответственно. При однократном облучении мышей линии BALB/c с опухолью Акатол в дозе 2 Гр (с мощностью дозы 75 сГр/мин) обнаружены незначительные изменения содержания GSH в плазме крови относительно необлученного контроля (опухоль). При этом уровень GSSG увеличивается в два и пять раз по сравнению с необлученным контролем и нормой (соответственно), что приводит к снижению GSH/GSSG в два раза относительно контроля и практически к совпадению с нормой (рис. 5). Высокий уровень окислительного стресса может превысить возможности клетки по восстановлению GSSG в GSH и привести к накоплению GSSG. Использование радиотерапии, основанной на изменении содержания глутатиона (GSH, GSSG) в плазме крови, позволит изменить устойчивость опухолевых клеток и привести к задержке роста опухоли. Возможно, облучение солидных опухолей в малых дозах позволит добиваться регрессии опухоли при относительной сохранности нормальных тканей организма.

Повышение GSH при действии радиации в малых дозах связывают либо с увеличением синтеза GSH [23,24] или с редуکتивным стрессом, характеризующимся аномально высоким уровнем восстановительных компонентов внутри биологических систем [25]. Редуکتивный стресс, продолжающийся в течение длительного времени, может привести к изменению другого самого отдаленного редокс-баланса, т. е. к окислительному стрессу, индуцируя сигнальные нарушения в клетках [22]. Нарушение обратимой модификации смешанных дисульфидов «белок-глутатион» является важным во взаимодействии с первичными радиационными повреждениями структуры ДНК, инициируя увеличение частоты хромосомных нарушений в присутствии высоких уровней GSH [26]. Полагают, что опухолевые клетки с высоким уровнем GSH могут повысить частоту хромосомных нарушений после облучения и привести к апоптотической гибели клетки [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное обследование детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, и ликвидаторов Чернобыльской аварии, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности, выявило сложную зависимость цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови с уровнем GSH в плазме. Неконтролируемое облучение в малых дозах проявляется в длительно сохраняющихся хромосомных нарушениях в лимфоцитах периферической крови и про- и антиоксидантных свойствах GSH в плазме. Выявленная связь между состоянием хромосомного комплекса в лимфоцитах пе-

риферической крови как показателя скорости соматического мутагенеза и содержанием GSH в плазме позволяет обоснованно прогнозировать возможное развитие отдаленной постлучевой опухолевой патологии среди лиц, подвергавшихся радиационному воздействию преимущественно в малых дозах.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От участников исследования было получено информированное добровольное согласие.

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. В. Соколовский, *Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды* (Наука, СПб., 2008).
2. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **39**, 44 (2007).
3. V. Halliwell, *Plant Physiol.* **141**, 312 (2006).
4. T. L. McNeil and L.Y.Beck, *Anal. Biochem.* **22**, 431 (1968).
5. Г. Ф. Иваненко, И. И. Сусков и Е. Б. Бурлакова, *Изв. РАН. Сер. биол.* **4**, 410 (2004).
6. Г. П. Снигирева, А. Н. Богомазова, Н. Н. Новицкая и др., *Регистрационное удостоверение № ФС-2007/015-У*. М. с. 29 (2007).
7. G. F. Ivanenko and E. B. Burlakova, *Engineering* **5**, 62 (2013).
8. И. И. Сусков, Н. С. Кузьмина, В. С. Сускова и др., *Радиационная биология. Радиоэкология* **48** (3), 278 (2008).
9. Н. В. Литвяков, М.Б. Фрейдин, М.В. Халюзова и др., *Радиационная биология. Радиоэкология* **54** (3), 283 (2014).
10. Г. Ф. Иваненко и Е. Б. Бурлакова, *Радиация и риск* **26** (4) 111 (2017).
11. С. Б. Мельнов и Т. В. Лебедева, *Радиационная биология. Радиоэкология* **44** (6), 627 (2004).
12. D. Kumar, S. R. Salián, G. Kalthur, et al., *Environ. Res.* **132**, 207 (2014).
13. В. А. Шевченко и Г. П. Снигирёва, *Радиационная биология. Радиоэкология* **46** (2), 133 (2006).
14. T. Straume and M. A. Bender, *Radiat. Res.* **148** (5), 60 (1997).
15. И. Е. Воробцова, *Вопр. онкологии* **4**, 490 (2008).

16. Е. Г. Неронова и С. С. Алексанин в сб. *Тезисы конференции «Медицинские радиологические последствия Чернобыля: Прогноз и фактические данные спустя 30 лет»* (2016), с. 98.
17. Е. Б. Бурлакова, А. Н. Голошапов, Г. П. Жижина и А. А. Конрадов, *Радиационная биология. Радиоэкология* **39** (1), 26 (1999).
18. Ю. И. Бандажевский и Н. Ф. Дубовая, *Педиатрия. Восточная Европа* **5** (1), 25 (2017).
19. S. A. Larimore, P. J. Coastes, and E. G. Wright, *Oncogene* **22**, 7058 (2003).
20. H. Škovierová, E. Vidomanová, S. Mahmood, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 1716 (2016).
21. S. Kojima, K. Nakayama, and H. Ishida, *J. Radiat. Res.* **45**, 33 (2004).
22. S. Borrego, A. Vazquez, F. Dasi, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **14** 3467 (2013).
23. K. H. Srivastava, R. D. Austin, D. Shrivastava, and G. Pranavadhyan, *Dent. Res. J. (Isfahan)* **11** (2), 180 (2014).
24. E. K. Lee, J. A. Kim, J. S. Kim, et al., *Free Radic. Res.* **47** (2), 89 (2013).
25. M. Kemp, Y. M. Go, and D. P. Jones, *Free Radic. Biol. Med.* **44**, 921 (2008).
26. F. Chatterjee, *Nutrients* **5**, 525 (2013).

Late Biochemical and Cytogenetic Changes in Plasma and Peripheral Blood Lymphocytes in Persons after Exposure to Low Dose-Rate Radiation as a Result of the Accident at Chernobyl Nuclear Power Plant

G.F. Ivanenko

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

A study was conducted in adults who had been emergency workers (liquidators) recruited to conduct disaster response and exposed to radiation externally and internally in the dose range between 0,1 and 70 cSv and in children who live in the territories with different levels of radionuclide contamination (1–20 Ci/ km²) as a result of the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant to assess the biochemical and cytogenetic indices of the peripheral blood lymphocytes. The body's reaction to low dose-rate radiation has been studied based on comparative analysis of the relationship between the chromatid breaks index, the rate of mutagenesis in somatic cells (lymphocytes), and the level of reduced glutathione in the blood plasma. Increased frequency of chromatid breaks in lymphocytes and increased level of reduced glutathione in the blood plasma in children and liquidators exposed to low dose radiation (0,1–20 cSv). were found to be statistically significant when compared to control. As radiation dose increased (20–70 cSv), evolution of cytogenetic abnormalities in the peripheral blood lymphocytes in liquidators and children from Chechersk is followed by a decrease in the water-soluble antioxidant level in plasma. The results obtained on the relationship of the level of reduced glutathione with the major indices of the cytogenetic status are important for identification of late pathological health-related conditions in persons exposed to chronic ionizing radiation.

Keywords: radiation, children, liquidators, glutathione, blood plasma, lymphocytes, chromosomal aberrations