

Оценка спектра и частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников объекта использования атомной энергии на протяжении 15 лет трудовой деятельности

Т.В. Вишневская¹, М.Ю. Цыпленкова¹, Д.С. Исубакова¹, О.С. Цымбал¹,
И.В. Мильто^{1,2}, Р.М. Тахауов^{1,2}

¹ Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство, Северск, Россия

² Сибирский государственный медицинский университет, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

Введение: Одним из наиболее чувствительных методов, широко используемых для оценки генотоксических эффектов ионизирующего излучения на организм человека в ранний и отдаленный периоды после облучения, является оценка спектра и частоты хромосомных aberrаций. В настоящей работе проведен сравнительный анализ частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников объекта использования атомной энергии с ретроспективной исследования за 15 лет. Цель исследования заключалась в оценке динамики частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников в 2003 г. и 2018 г. **Материалы и методы:** Оценка последствий воздействия ионизирующего излучения на организм человека выполнена путем цитогенетического обследования работников ($n=20$), подвергавшихся долговременному профессиональному внешнему облучению низкой интенсивности. Группу контроля составили работники, которым в 2003 г. проведен цитогенетический анализ. Группу исследования составили те же работники, которым в 2018 г. повторно проведен цитогенетический анализ. При формировании выборки исключали людей с сочетанным и/или внутренним облучением. **Результаты исследования и обсуждение:** При сравнении частот хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников выявлены различия между изучаемыми группами по частоте дицентрических хромосом ($p<0,05$). В группе исследования, по сравнению с группой контроля, повышена частота дицентрических хромосом ($p=0,0017$). Частоты других изученных типов хромосомных aberrаций (хромосомные фрагменты, хроматидные фрагменты и кольцевые хромосомы) не различались между сравниваемыми группами. **Заключение:** Сравнение спектра и частоты хромосомных aberrаций (2003 г.) лимфоцитов крови работников объекта использования атомной энергии с аналогичными показателями после 15 лет профессиональной деятельности (2018 г.), выявило увеличение частоты дицентрических хромосом. Данное цитогенетическое изменение может быть обусловлено пролонгированным комбинированным влиянием техногенного облучения ионизирующим излучением и нерадиационных вредных производственных факторов (химические вещества, физические факторы и др.), а также старением организма работников объекта использования атомной энергии.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, дицентрические хромосомы, ионизирующее излучение, ретроспективный анализ, индивидуальная радиочувствительность.

Введение

В настоящее время источники ионизирующего излучения (ИИ) широко используются не только в промышленности, но и в медицине, научной работе и др. Одним из последствий воздействия ИИ на организм человека являются мутации в соматических клетках, которые способствуют возникновению радиогенных заболеваний или нарушений.

Одним из неблагоприятных факторов, обуславливающих повышенный риск развития заболеваний различной этиологии, является профессиональное техногенное облучение ИИ [1]. В связи с широким использованием ИИ в различных сферах деятельности организм современного человека испытывает на себе последствия его воздействия.

Существенный вклад в коллективную эффективную дозу облучения вносят природные источники ИИ, на которые при-

ходит основная доля облучения населения, наряду с медицинским облучением и облучением от всех искусственных источников ИИ, в т. ч. от объектов использования атомной энергии (ОИАЭ). Облучение человека за счет естественного радиационного фона оценивается экспертами НКДАР ООН в среднем около 3,6 мЗв/год [2]. При этом около 84 % активности естественного радиационного фона обусловлено радионуклидами земной локализации. Стоит отметить, что характерной особенностью естественного радиационного фона нашей планеты является его неоднородность.

Данные научной литературы подтверждают актуальность проведения исследований по изучению последствий радиационного воздействия на население, проживающее вблизи ОИАЭ или на территориях, загрязненных радионуклидами. Одним из ярких примеров таких исследований является р. Теча и прилегающие к ней территории, которые

Вишневская Татьяна Валерьевна

Северский биофизический научный центр

Адрес для переписки: 636013, Томская область, г. Северск, пер. Чекист, 7, корп. 2; E-mail: Vishnenskaya_seversk@mail.ru

в 1949–1956 гг. были подвергнуты радиоактивному загрязнению ПО «Маяк» [3, 4]. На загрязненной территории в более чем 40 сельских населенных пунктах проживало порядка 30 000 человек. Позднее население пострадавшего региона было объединено исследователями в когорту р. Течи [5].

Особое внимание стоит уделить работникам, чья трудовая деятельность связана с воздействием ИИ. Несмотря на дозиметрический контроль и постоянное совершенствование методов радиационной защиты, остается актуальным вопрос о влиянии «малых» доз ИИ на здоровье работников ОИАЭ [6]. Медицинские работники также являются одной из наиболее крупных профессиональных когорт, подверженной воздействию ИИ. Данные многочисленных исследований показывают, что воздействию рентгеновских лучей подвергаются не только работники рентген-кабинетов, но и врачи, выполняющие рентгенохирургические вмешательства [7].

Влияние ИИ приводит к разрыву фосфодиэфирных связей между нуклеотидами ДНК, химической модификации азотистых оснований и конъюгации ДНК. Из-за этого в ДНК образуются однонитевые и двунитевые разрывы, внутри- и межмолекулярные сшивки, сшивки ДНК с белками хроматина или ядерного матрикса [8]. Некоторое количество повреждений клетка способна устранить с помощью системы репарации, однако возникновение большого количества дефектов ДНК (например, двунитевых разрывов) может привести к неполному восстановлению или к гибели клетки.

В настоящее время наиболее точным и чувствительным биомаркером ранних эффектов действия ИИ на организм человека является определение цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови [9]. Культура лимфоцитов крови человека является признанной тест-системой, характеризующейся высокой чувствительностью, которая позволяет дифференцировать мутагенные эффекты химической и физической (включая ИИ) природы. Установлено, что химические агенты индуцируют в лимфоцитах крови человека в основном хромосомные aberrации (ХА) хроматидного типа, физические агенты – ХА хромосомного типа. Следует отметить, что дицентрические и кольцевые хромосомы являются маркерами воздействия ИИ, позволяющими осуществлять биологическую индикацию радиационного воздействия, а при облучении ИИ в «больших» дозах – и биологическую дозиметрию [10]. Анализ результатов цитогенетических исследований, выполненных в течение многолетних наблюдений за состоянием генома соматических клеток работников, участвовавших в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, продемонстрировал способность радиационно-индуцированных ХА сохраняться длительное время после облучения ИИ [11]. Среди специалистов в области радиационной медицины существует мнение, что облучение в «малых» дозах индуцирует развитие ряда патологических состояний, в частности, заболеваний сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной и эндокринной систем [12]. Это подтверждает актуальность исследований, направленных на поиск биологических маркеров, специфичных для радиационного воздействия в раннем и отдаленном периодах после облучения ИИ.

Цель исследования – оценить динамику частоты ХА в лимфоцитах крови работников ОИАЭ в 2003 г. и 2018 г.

Материалы и методы

Исследование проведено на 20 условно здоровых работников ОИАЭ, подвергавшихся действию ИИ в ходе своей профессиональной деятельности, из которых было сформиро-

вано две группы: группа контроля ($n = 20$, взятие крови и цитогенетическое исследование лимфоцитов крови проведено в 2003 г.) и группа исследования ($n = 20$, взятие крови проведено в 2018 г.). Группы были сформированы с учетом цитогенетических суспензий, имеющихся в банке биологического материала (ББМ) ФГБУН СБН Центр ФМБА России.

Критерии включения: хроническое профессиональное техногенное общее внешнее облучение ИИ низкой интенсивности, суммарная доза внешнего облучения не превышает 150 мЗв, отсутствие аварийного облучения, отсутствие хронических заболеваний.

Критерии исключения: наличие сочетанного или внутреннего облучения, доза облучения более 150 мЗв, сверхнормативное облучение, наличие хронических заболеваний.

Индивидуальные дозы внешнего облучения ИИ были получены в отделе охраны труда, ядерной и радиационной безопасности ОИАЭ. Источником медицинской информации о работниках ОИАЭ являлся архив медицинской документации и электронная база данных ББМ [13, 14]. Накопленная доза ИИ у работников, участвовавших в исследовании, за эти годы либо осталась прежней, либо незначительно увеличилась.

Каждый работник ОИАЭ, включенный в исследование, подписал добровольное информированное согласие на обработку своих персональных данных и использование биоматериала (венозной крови) для научных целей.

Для выборок вычисляли среднее арифметическое, стандартную ошибку среднего арифметического, медиану, интерквартильный размах.

Характеристики группы контроля и группы исследования приведены в таблице 1.

В качестве материала для исследования использовали венозную кровь. Первый забор крови и цитогенетический анализ послужил контролем для настоящего исследования. Через 15 лет после первой сдачи крови и оценки частоты ХА у этих же работников ОИАЭ был повторно взят биологический материал.

Культивирование образцов цельной венозной крови проводили следующим образом: к 16 мл RPMI 1640 (ПанЭко, Россия) с L-глутамином (ПанЭко, Россия) добавляли 4 мл крови, 4 мл инактивированной эмбриональной сыворотки (ПанЭко, Россия) и 0,4 мл фитогемагглютинаина (ПанЭко, Россия). Культуральные флаконы помещали в орбитальный шейкер-инкубатор (BiosanSia, Латвия) на 48 ч (37°C). За 1,5 ч до окончания инкубации в культуральные флаконы вносили колхицин (ПанЭко, Россия).

Цитогенетические препараты готовили по стандартной методике: гипотонизация 0,56%-м раствором хлорида калия, фиксация смесью этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Окраску хромосом проводили красителем Гимза на фосфатном буфере. Цитогенетический анализ проводили на обезличенных цитогенетических препаратах (световой микроскоп Leica DM2500, Германия). У каждого работника изучали 300 метафазных пластинок. Оценивали цитогенетические нарушения хромосомного типа (хромосомные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы) и хроматидного типа (хроматидные фрагменты).

Результаты представлены в виде частоты ХА на 100 проанализированных метафазных пластинок. Для каждой группы определена частота обнаружения отдельных типов ХА (в % от общего числа работников). Обработку количественных результатов проводили в программе Statistica 8.0 (StatSoft, США): для каждого типа ХА вычисляли медиану и квартили, для сравнения количественных показателей между группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп

[Table 1]

Characteristics of the surveyed groups

Показатель [Indicator]		Группа контроля (2003 г.) [Control group (2003)]	Группа исследования (2018 г.) [Study group (2018)]
Количество обследованных, чел. [Number of examined persons]		20	20
Мужчины/женщины, чел. [Men/women, persons]		13/7	13/7
Возраст, лет [Age, years]	M ± SE*	55,05 ± 8,23	69,80 ± 8,13
Стаж работы, лет [Work experience, years]	M ± SE	29,35 ± 11,39	44,5 ± 11,20
Доза внешнего облучения, мЗв [External radiation dose, mSv]	Медиана (L-R)* [Median(L-R)]*	101,07 (63,34-244,82)	106,94 (66,99-255,82)

* Здесь и далее: M – среднее арифметическое; SE – стандартная ошибка среднего арифметического; L-R – интерквартильный размах [Here and below: M is the arithmetic mean; SE is the standard error of the arithmetic mean; L-R is the interquartile range].

Результаты и обсуждение

Увеличение частоты цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови работников объекта использования атомной энергии после 15 лет трудовой деятельности в условиях хронического профессионального техногенного облучения ионизирующим излучением может быть обусловлено как изолированным воздействием ионизирующего

излучения, так и совокупным его воздействием с нерадиационными вредными производственными факторами.

Цитогенетический анализ является признанным, наиболее доступным и хорошо воспроизводимым методом оценки токсического воздействия на организм различных факторов. Результаты анализа частоты ХА в группе контроля и группе исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Частота хромосомных aberrаций в исследуемых группах

[Table 2]

The frequency of chromosomal aberrations (CA) in the study groups

Тип ХА [Type of CA]	Частота ХА на 100 клеток, M (L-R) [Frequency of CA per 100 cells, M (L-R)]		p-value
	Группа контроля, 2003 г. (n* = 20) [Control group, 2003 (n = 20)]	Группа исследования, 2018 г. (n = 20) [Study group, 2018 (n = 20)]	
Аберрантные клетки [Aberrant cells]	2,63 (1,00-4,78)	2,55 (1,00-3,29)	0,6163
Хроматидные фрагменты [Chromatid fragments]	1,29 (0,33-1,98)	0,92 (0,32-1,00)	0,0507
Хромосомные фрагменты [Chromosome fragments]	0,76 (0,32-1,33)	0,88 (0,33-1,33)	0,4240
Кольцевые хромосомы [Ring chromosomes]	0,12 (0,00-0,32)	0,10 (0,00-0,32)	0,7639
Дицентрические хромосомы [Dicentric chromosomes]	0,29 (0,00-0,33)	0,52 (0,33-0,83)	0,0017**

* n – число обследованных в группе, p-value – уровень статистической значимости различий по критерию Манна – Уитни; ** – статистически значимые (p<0,05) различия показателей [n is the number of subjects in a group, p-value is the level of statistical significance of differences according to the Mann-Whitney test; statistically significant (p<0.05) differences in indicators are highlighted in bold].

Таблица 2 демонстрирует, что различия между изученными группами выявлены только по частоте дицентрических хромосом (p = 0,0017; рис. 1).

В группе контроля на дицентрические хромосомы приходится 40 % общего количества ХА, в группе исследования – 95 %.

В группе контроля большая часть ХА представлена хроматидными (рис. 2) и хромосомными (рис. 3) фрагментами – 85 % (17 случаев из 20). В группе исследования 95 % ХА представлены дицентрическими хромосомами (19 случаев из 20) и 90%-хромосомными фрагментами (18 случаев из 20).

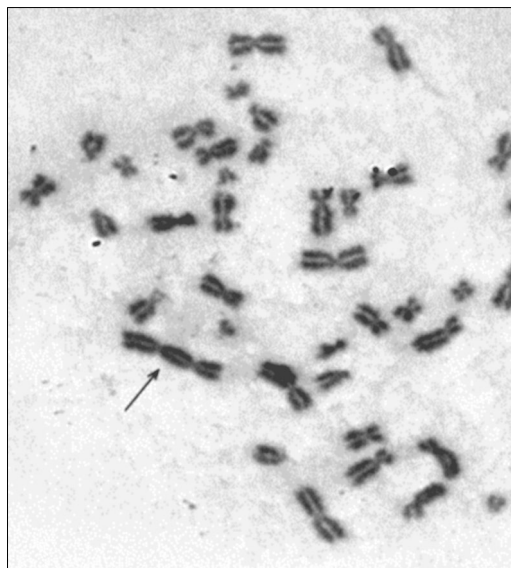


Рис. 1. Метафазная пластинка, содержащая дицентрическую хромосому
[Fig. 1. A metaphase plate containing a dicentric chromosome]

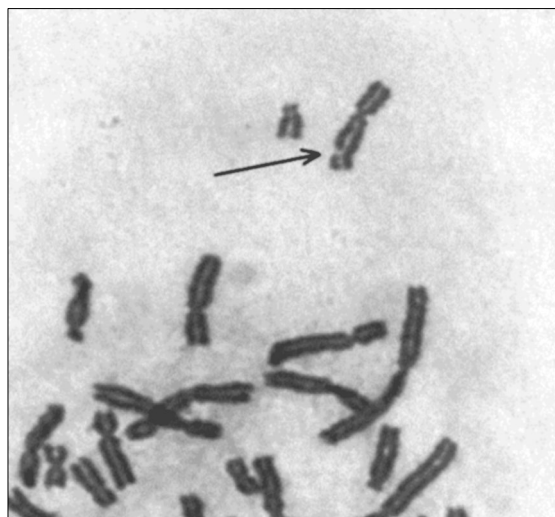


Рис. 2. Аберрация хроматидного типа: одиночный разрыв
[Fig. 2. Chromatid type aberration: single-strand break]

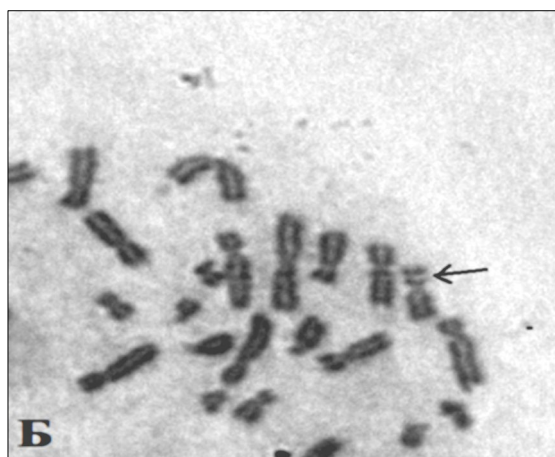
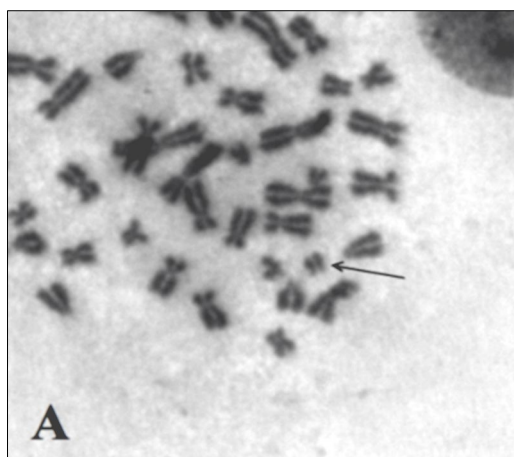


Рис. 3. Аберрации хромосомного типа: парный фрагмент (А) и парный разрыв хромосомы (Б)
[Fig. 3. Chromosomal aberrations: paired fragment chromosome (A) and paired chromosome break (B)]

Процентное соотношение хроматидных фрагментов и кольцевых хромосом в изучаемых группах оказалось одинаковым, в то время как процент хромосомных фрагментов и дицентрических хромосом увеличился. Кольцевые хромосомы в обеих группах составили 30 % от общего количества ХА.

Важным компонентом изучения генотоксического действия факторов производственной среды на человека являются эпидемиологические исследования, в частности, сопоставление результатов цитогенетического анализа с наличием профессионально обусловленных заболеваний. Изучение связи цитогенетических нарушений с состоянием здоровья работников предприятий химической отрасли проведено в работе Харченко Т.В. и соавторов. [15]. Авторами выполнен цитогенетический анализ у 138 работников химически опасных предприятий. Установлено статистиче-

ски значимое повышение частоты ХА у работников с подтвержденными профессионально обусловленными заболеваниями. Выявлено статистически значимое увеличение количества работников с частотой ХА свыше 5 % ($p < 0,01$) и/или носителей дицентрических и кольцевых хромосом ($p < 0,05$). Исследование Харченко Т.В. и соавторов подтверждает роль генотоксических производственных факторов в возникновении заболеваний.

Результаты нашей работы схожи с данными, полученными в ходе ретроспективного (16-46 лет после радиационного воздействия) цитогенетического исследования людей, подвергавшихся воздействию ИИ в результате испытаний ядерного оружия на Семипалатинском ядерном полигоне [16]. Показано, что у людей через 16 лет после облучения ИИ в дозах 42,0-150,0 сГр регистрировали наиболее высокую частоту ХА. Например, доля хромосомных и хро-

матидных фрагментов, дицентрических и кольцевых хромосом достоверно превышала аналогичные показатели группы контроля. Через 25-46 лет также отмечено превышение частоты ХА по сравнению с группой контроля, однако их частота снизилась в 2 раза по сравнению с предыдущим периодом.

Исследование по изучению биологических эффектов «малых» доз среди работников, участвовавших в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, также продемонстрировало способность радиационно-индуцированных ХА сохраняться в течение длительного времени после облучения ИИ [17].

В прошлом веке на ПО «Маяк» произошло несколько аварий, в ходе которых облучению ИИ подверглось население, проживающее на территориях, прилегающих к ОИАЭ (более 100 000 человек). Работники УНПЦ РМ ФМБА России (г. Челябинск) ведут наблюдение за состоянием здоровья этого населения и их потомков, а также изучают медико-биологические последствия воздействия ИИ на организм облученных людей [18]. Ими установлено повышение частоты нестабильных ХА у населения после воздействия ИИ по сравнению с лицами, не подвергавшимися аварийному облучению ИИ. Вместе с тем, у этих людей было отмечено снижение частоты ХА в 2 раза через 25 и 50 лет после облучения ИИ. Подобные результаты объясняются элиминацией поврежденных соматических клеток. Показано, что при 2-м митозе частота клеток с дицентрическими хромосомами снижается на 50 %. Коллеги из УНПЦ РМ ФМБА России выяснили, что частота ХА коррелирует с возрастом человека: у новорожденных детей дицентрические хромосомы в лимфоцитах крови не выявляются, а по мере взросления количество лимфоцитов крови с ХА увеличивается [18]. Этот результат исследования коллег [18] вызывает интерес и служит предпосылкой для дальнейшего исследования. Результаты работы УНПЦ РМ ФМБА России подтверждают, что повышенная частота ХА является не только маркером воздействия ИИ, но и маркером клеточного старения.

Ввиду отсутствия значимого увеличения суммарной дозы внешнего облучения в группе исследования на протяжении 15 лет профессиональной деятельности, увеличение частоты дицентрических хромосом может быть обусловлено действием нерадиационных вредных производственных факторов (сильные кислоты, толуол, пыль, повышенная температура и др.).

Следует отметить, что увеличение частоты ХА, в частности, дицентрических хромосом может быть обусловлено старением организма работников ОИАЭ. Общеизвестно, что с возрастом снижается активность и эффективность работы систем репарации ДНК, вследствие этого они становятся не в состоянии элиминировать возникающие ХА даже при условии, что частота их формирования не изменилась. Это обстоятельство приводит к накоплению ХА в клетках и увеличению частоты их определения с возрастом.

При оценке мутагенного действия ИИ в различных группах облученных лиц нельзя не учитывать межпопуляционную генетическую гетерогенность и индивидуальную радиочувствительность [19], которая является полигенным признаком, зависящим от взаимодействия многих генов и их продуктов, участвующих в регуляции разнообразных клеточных процессов [20]. Генетическое многообразие, которым обладают

клетки одной ткани, позволяет им по-разному реагировать на генотоксическое воздействие, запуская механизмы восстановления или апоптоза без ущерба для деятельности ткани и организма. От индивидуальных особенностей клеток организма зависит мутагенный эффект ИИ и радиопооражаемость различных тканей [21].

Для проведения широкомасштабных генетических исследований с привлечением новейших молекулярно-генетических технологий необходим тщательный подбор групп с возможным учетом вышеперечисленных параметров, включая демографические данные [22].

Результаты данной работы позволяют дополнить представления о мутационном процессе в соматических клетках лиц, которые подвергаются воздействию ИИ в ходе профессиональной деятельности. Корректная интерпретация результатов цитогенетического обследования работников ОИАЭ возможна только при наличии информации об исходной частоте ХА, которая зависит от места и условий проживания, а также влияния производственных и бытовых факторов генотоксического характера.

Выявленные статистические различия частоты дицентрических хромосом заслуживают особого внимания, так как наличие этого типа ХА является маркером радиационного воздействия и позволяет верифицировать факт облучения ИИ. Кроме того, ретроспективный цитогенетический анализ может использоваться для определения степени генетических нарушений при воздействии ИИ не только при профессиональной деятельности, но и в медицинских целях.

Отсутствие значимого увеличения частоты абберрантных клеток в группе исследования при увеличении частоты дицентрических хромосом может быть связано с особенностями учёта ХА в нашем исследовании. Так, к абберрантным клеткам относили лимфоциты, имеющие один любой из изученных типов ХА; клетки, имеющие множество ХА (более 5 ХА), учитывали как мультиабберрантные клетки (данные не приведены). Отсутствие увеличения частоты абберрантных клеток при условии повышения частоты дицентрических хромосом может быть обусловлено ростом частоты мультиабберрантных клеток.

Отдельной задачей для специалистов радиологического профиля является оценка последствий лучевой терапии для пациента на основе цитогенетического исследования [23, 24]. Работниками МРНЦ им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск) была проведена ретроспективная оценка тяжести отдаленных лучевых повреждений у пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗНО) методом цитогенетического исследования лимфоцитов крови. В группе были представлены пациенты с болезнью Ходжкина, раком молочной железы, раком предстательной железы, раком шейки и тела матки и ЗНО костей. В работе МРНЦ им. А.Ф. Цыба показано, что повышенная частота стабильных ХА в лимфоцитах крови пациентов с ЗНО различной локализации сохраняется на протяжении нескольких лет после лучевой терапии. Локализация опухоли при этом не имеет существенного значения. Отмечено, что важную роль играет продолжительность периода времени между окончанием лучевой терапии и проведением цитогенетического анализа. Для ретроспективной оценки частоты стабильных ХА необходимо использовать соответствующий дозовый коэффициент. Половина обследованных пациентов с ЗНО относится к группе повышенного риска вторичных ЗНО по причине обнаружения у них мультиабберрантных клеток, которые возникают вследствие сложных нерепарируемых повреждений ДНК [25].

Одной из основных целей ретроспективной биодозиметрии является прогноз развития возможных отдаленных последствий длительного облучения ИИ. Биодозиметрическое исследование рекомендуется проводить в ранние сроки после воздействия на организм ИИ, так как с течением времени точность оценки дозы облучения ИИ снижается. Данные биодозиметрического исследования могут быть использованы для проведения медико-социальной экспертизы в более поздние сроки после воздействия ИИ, если в ранние сроки после облучения оно по тем или иным причинам не проводилось [26].

Заключение

Выявленное повышение частоты дицентрических хромосом в лимфоцитах крови работников ОИАЭ спустя 15 лет профессиональной деятельности может быть обусловлено пролонгированным комбинированным влиянием техногенного облучения ИИ и нерадиационных вредных производственных факторов (химические вещества, физические факторы и др.), а также старением организма работников.

В дальнейшем для полноты и точности ретроспективного анализа планируется провести исследование на большей выборке с учетом имеющихся заболеваний, индивидуальных особенностей, а также вредных привычек (в первую очередь, курения) у исследуемых индивидов.

Сведения о личном вкладе авторов в работу над статьей

Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Вишневская Т.В. – написание текста статьи, анализ и интерпретация данных, проведение экспериментов, сбор и анализ литературного материала, разработка концепции и дизайна исследования.

Цыпленкова М.Ю. – проведение экспериментов, сбор и обработка материалов.

Исубакова Д.С. – разработка концепции и дизайна исследования, осуществление внутреннего аудита.

Цымбал О.С. – проведение экспериментов, сбор и анализ литературного материала.

Мильто И.В. – научное редактирование текста, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Тахауов Р.М. – осуществление общего научного руководства исследованием, утверждение окончательного варианта рукописи.

Благодарности

Исследование выполнено на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Северский биофизический научный центр» Федерального медико-биологического агентства (г. Северск). Авторы признательны директору Тахауову Р.М. и всем сотрудникам центра за помощь в проведении исследования. Выражаем благодарность руководителю отдела молекулярной и клеточной радиобиологии Мильто И.В. за консультации и проверку интеллектуального содержания статьи.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Сведения об источнике финансирования

Исследование выполнено в рамках государственного задания, тема НИР «Изучение связи однонуклеотидных полиморфизмов генов клеточного цикла с частотой хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников Сибирского химического комбината».

Литература

1. Агзамова Г.С. Цитогенетические изменения в клетках периферической крови у людей под воздействием различных химических веществ (первое сообщение) // Acta Biomedica Scientifica. 2010. № 1. С. 88-90.
2. Башилов Н.И. Естественные источники ионизирующего излучения // Молодой ученый. 2018. № 24 (210). С. 277-282.
3. Burkart W., Jung T. Health risk from combined exposure: mechanistic considerations on deviation from additivity // Mutation Research. 1998. Vol. 411. P. 119-128. DOI: 10.1016/s1383-5742(98)00011-8.
4. Малиновский Г.П., Васильев А.В., Онищенко А.Д. Ретроспективная оценка уровней облучения населения уральского региона, проживающего на загрязненной территории, от естественных источников ионизирующего излучения // Биосферная совместимость: человек, регион, технологии, 2017. № 2(18). С. 83-89.
5. Аклеев А.В., Дегтерева М.О., Крестинина Л.Ю. Радио-эпидемиологические исследования на Урале: итоги и перспективы // Радиационная гигиена. 2021. Т. 14, № 4. С. 31-44. DOI: 10.21514/1998-426X-2021-14-4-31-44.
6. Вишневская Т.В., Исубакова Д.С., Цыпленкова М.Ю. и др. Сравнительный ретроспективный анализ результатов цитогенетических исследований работников объекта использования ионизирующего излучения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69, № 1. С. 61-66. DOI: 10.33266/1024-6177-2024-69-1-61-66.
7. Гордиенко Л.Д., Киселева Т.П., Гордиенко И.И., Цап Н.А. Развитие тиреоидной патологии у медицинских работников при хроническом воздействии ионизирующего излучения в малых дозах // Уральский медицинский журнал. 2021. № 5. С. 90-97. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-5-90-97.
8. Шаброва Е.С., Раздувалова С.А. Влияние ионизирующего излучения на геном человека // Экология и безопасность жизнедеятельности: Сборник статей XXI Международной научно-практической конференции (Пенза, 13-14 декабря 2021 г.) / Под ред. В.А. Селезнева, И.А. Лукшина. Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2021. С. 227-230.
9. Харченко В.П., Снигирева Г.П., Зотов В.К., Куликова Т.А. Некоторые аспекты медицинской деятельности по преодолению последствий Чернобыльской катастрофы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56, № 3. С. 293-299. DOI: 10.7868/S0869803116030061.
10. Севаньяев А.В., Хвостунов И.К., Снигирева Г.П. и др. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53, № 1. С. 5-24. DOI: 10.7868/S0869803112060124.
11. Алексанин С.С., Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Чрезвычайные ситуации и геном человека. СПб.: Политехника-сервис, 2010. 84 с.
12. Иванов В.К. Медицинские радиологические последствия Чернобыля для населения России: оценка радиационных рисков. М.: Медицина, 2002. 392 с.
13. Тахауов Р.М., Карпов А.Б., Зеренков А.Г. и др. Медико-дозиметрический регистр персонала Сибирского химического комбината – база для оценки эффектов хронического облучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. Т. 55, № 5. С. 467-473. DOI: 10.7868/S0869803115050124.

14. Takhaou R.M., Karpov A.B., Albach E.N. et al. The bank of biological samples representing individuals exposed to long-term ionizing radiation at various doses // *Biopreservation and Biobanking*. 2015. Vol. 13, No. 2. P. 72-78. DOI: 10.1089/bio.2014.0035.
15. Харченко Т.В., Аржавкина Л.Г., Синякин Д.А., Язенок А.В. Хромосомные нарушения у работников химически опасных предприятий с различным состоянием здоровья // *Гигиена и санитария*. 2015. Т. 94, № 8. С. 31-35.
16. Апсаликов К.Н., Мулдагалиев Т.Ж., Белихина Т.И. и др. Анализ и ретроспективная оценка результатов цитогенетических обследований населения Казахстана, подвергавшегося радиационному воздействию в результате испытаний ядерного оружия на Семипалатинском полигоне, и их потомков // *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*. 2013. Т. 9, № 1. С. 42-49.
17. Neronova E., Slozina N., Nikiforov A. Chromosome alterations in cleanup workers sampled years after the Chernobyl accident // *Radiation Research*. 2003. Vol. 160, No. 1. P. 46-51. DOI: 10.1667/0033-7587(2003)160[0046:CAICWS]2.0.CO;2
18. Возилова А.В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных aberrаций // *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023. Т. 25, № 2. С. 85-90. DOI: 10.47183/mes.2023.015.
19. Pond K.W., Doubrovinski K., Thorne C.A. WNT/ β -catenin Signaling in Tissue Self-Organization // *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11, No. 8. P. 939. DOI: 10.3390/genes11080939.
20. Chen G., Chen W., Ye M. et al. TRIM59 knockdown inhibits cell proliferation by down-regulating the WNT/ β -catenin signaling pathway in neuroblastoma // *Bioscience Reports*. 2019. Vol. 39, No. 1. P. BSR20181277. DOI: 10.1042/BSR20181277.
21. Liu J., Xiao Q., Xiao J. et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022. Vol. 7, No. 1. P. 3. DOI: 10.1038/s41392-021-00762-6.
22. Risch N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium // *Nature*. 2000. Vol. 405. P. 847-856. DOI: 10.1038/35015718.
23. Vorobtsova I., Darroudi F., Semyonov A. et al. Analysis of chromosome aberrations by FISH and Giemsa assays in lymphocytes of cancer patients undergoing whole-body irradiation: comparison of *in vivo* and *in vitro* irradiation // *International Journal of Radiation Biology*. 2001. Vol. 77, No. 11. P. 1123-1131. DOI: 10.1080/09553000110075527.
24. Kutsuki S., Ihara N., Shigematsu N. et al. Relation between chromosomal aberrations and radiation dose during the process of TBI // *Radiation Medicine*. 2005. Vol. 23, No. 1. P. 37-42.
25. Хвостунов И.К., Курсова Л.В., Шепель Н.Н. и др. Ретроспективная оценка тяжести отдаленных лучевых повреждений онкологических пациентов методом цитогенетического обследования // *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2022. Т. 31, № 3. С. 87-99. DOI: 10.21870/0131-3878-2022-31-3-87-99.
26. Иванова Т.В. Цитогенетические методы исследования: возможности лабораторной диагностики и информативность для врача // *Терапевт*. 2020. № 5. С. 12-19. DOI: 10.33920/MED-12-2005-02.

Поступила: 22.10.2024

Вишневская Татьяна Валерьевна – младший научный сотрудник, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство. **Адрес для переписки:** 636013, Россия, Томская область, г. Северск, пер. Чекист, 7, корп. 2; E-mail: Vishnevskaya_seversk@mail.ru
ORCID: 0000-0003-2264-0546

Цыпленкова Мария Юрьевна – младший научный сотрудник, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство, Северск, Россия
ORCID: 0009-0001-9932-0180

Исубакова Дарья Сергеевна – научный сотрудник, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство, Северск, Россия
ORCID: 0000-0002-5032-9096

Цымбал Ольга Сергеевна – научный сотрудник, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство, Северск, Россия
ORCID: 0000-0002-2311-0451

Мильто Иван Васильевич – доктор биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство; заведующий кафедрой морфологии и общей патологии, Сибирский государственный медицинский университет, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия
ORCID: 0000-0002-9764-4392

Тахауов Равиль Манихович – доктор медицинских наук, профессор, директор, Северский биофизический научный центр, Федеральное медико-биологическое агентство; профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, Сибирский государственный медицинский университет, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия
ORCID: 0000-0002-1994-957X

Для цитирования: Вишневская Т.В., Цыпленкова М.Ю., Исубакова Д.С., Цымбал О.С., Мильто И.В., Тахауов Р.М. Оценка спектра и частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников объекта использования атомной энергии на протяжении 15 лет трудовой деятельности // *Радиационная гигиена*. 2025. Т. 18, № 1. С. 18–26. DOI: 10.21514/1998-426X-2025-18-1-18-26

Assessment of the spectrum and frequency of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of employees of an atomic energy facility during 15 years of work

Tatyana V. Vishnevskaya¹, Maria Yu. Tsyplenkova¹, Daria S. Isubakova¹,
Olga S. Tsymbal¹, Ivan V. Milto^{1,2}, Ravil M. Takhauov^{1,2}

¹ Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

² Siberian State Medical University, Ministry of the Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

Introduction: One of the most sensitive methods widely used to assess genotoxic effects on the human body in the early and long-term periods is the assessment of chromosomal aberrations. The study was focused on comparative analysis of the frequency of chromosomal aberrations in the blood lymphocytes of personnel ($n = 20$) of an atomic energy facility with a 15-year retrospective study. The aim of the study was to assess the dynamics of the frequency of chromosomal aberrations in the lymphocytes of the blood of atomic energy facility workers for 15 years. **Materials and Methods:** The assessment of the effects of ionizing radiation on the human body was performed by cytogenetic examination of the employees of the atomic energy facility ($n = 20$) exposed to ionizing radiation during their professional activities. The control group was composed of employees of the atomic energy facility, who underwent cytogenetic analysis in 2003. The study group was made up of the same employees of the atomic energy facility, who had been underwent a second cytogenetic study in 2018. **Results and Discussion:** A comparative analysis of the frequency of cytogenetic disorders in the blood lymphocytes of the atomic energy facility workers revealed differences between the studied groups in the frequency of dicentric chromosomes ($p < 0.05$). In the study group, compared with the control group, an increase in the frequency of dicentric chromosomes was revealed ($p = 0.0017$). The frequencies of the other chromosomal aberrations types studied (chromosomal fragments, chromatid fragments, and ring chromosomes) did not differ between the groups compared. **Conclusion:** The results of this work make it possible to supplement and trace the understanding of the mutation process in the somatic cells of individuals who are exposed to ionizing radiation during their professional activities. The revealed statistical differences in the frequency of dicentric chromosomes deserve special attention, since the presence of this type of chromosomal aberrations is a marker of radiation exposure and allows us to verify the fact of exposure.

Key words: chromosomal aberrations, dicentric chromosomes, ionizing radiation, retrospective analysis, individual radiosensitivity.

Authors' personal contribution

Thereby, all authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article, as well as read and approved the final version before its publication).

Tatyana V. Vishnevskaya – writing the main part of the text, analyzing and interpreting data, conducting experiments, collecting and analyzing literary material, developing the concept and design of the study.

Maria Yu. Tsyplenkova – conducting experiments, collecting and processing materials.

Daria S. Isubakova – development of the concept and design of the study, implementation of internal audit.

Olga S. Tsymbal – conducting experiments, analyzing literary material.

Ivan V. Milto – scientific text editing, verification of critical intellectual content.

Ravil M. Takhauov provided general scientific management of the project, making final edits.

Acknowledgments

The research was carried out on the basis of the Federal State Budgetary Institution of Science "Seversk Biophysical Research Center" of the Federal Medical-Biological Agency (Seversk). The authors are grateful to director Ravil M. Takhauov and all employees of the center for the assistance in conducting the study. The authors express their grati-

tude to the head of the laboratory of molecular and cellular radiobiology Ivan V. Milto for consultations in the work and verification of the intellectual content of the article.

Conflict of interests

The authors state that there is no potential conflict of interest.

Sources of funding

The study was carried out within the framework of the state task, the research topic is "Studying the relationship of single-nucleotide polymorphisms of cell cycle genes with the frequency of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of employees of the Siberian Chemical Plant".

References

1. Agzamova GS. Cytogenetic changes in peripheral blood cells in humans under the influence of various chemicals (first report). *Acta Biomedica Scientifica*. 2010;1: 88-90. (In Russian).
2. Bashilov NI. Natural sources of ionizing radiation. *Molodoy uchenyy = Young scientist*. 2018;24(210): 277-282. (In Russian).
3. Burkart W, Jung T. Health risk from combined exposure: mechanistic considerations on deviation from additivity. *Mutation Research*. 1998;411: 119-128. DOI: 10.1016/s1383-5742(98)00011-8.
4. Malinovsky GP, Vasilyev AV, Onishchenko AD. Retrospective assessment of exposure to natural ionizing radiation for population living in the radioactively contaminated area in Ural region. *Biosfernaya sovvestimost: chelovek, region, tekhnologii = Biospheric compatibility: human, region, technologies*. 2017;2(18): 83-89. (In Russian).

Tatyana V. Vishnevskaya

Seversk Biophysical Research Center

Address for correspondence: Chekist Lane, 7, building 2, Seversk, 636013, Russia; E-mail: Vishnevskaya_seversk@mail.ru

5. Akleyev AV, Degteva MO, Krestinina LYu. Radioepidemiological Studies in the Urals: Outcomes and Future Directions. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2021;14(4): 31-44. DOI: 10.21514/1998-426X-2021-14-4-31-44. (In Russian).
6. Vishnevskaya TV, Isubakova DS, Tsyplenkova MYu, Tsybmal OS, Milto IV, Takhaouov RM. Comparative retrospective analysis of the results of cytogenetic studies of workers at a facility using ionizing radiation. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost = Medical Radiology and Radiation Safety*. 2024;69(1): 61-66. DOI: 10.33266/1024-6177-2024-69-1-61-66. (In Russian).
7. Gordienko LD, Kiseleva TP, Gordienko II, Tape NA. Development of thyroid pathology in medical workers under chronic exposure to ionizing radiation in low doses. *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*. 2021;20(5): 90-97. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-5-90-97. (In Russian).
8. Shabrova ES, Razdualova SA. In the pouring of ionizing radiation on the human genome. Ecology and life safety: Collection of articles of the XXI International Scientific and Practical Conference (Penza, December 13-14, 2021) / Ed. by VA Seleznev, IA Lukshin. Penza: Penza State Agrarian University; 2021. P. 227-230.
9. Kharchenko VP, Snigireva GP, Zotov VK, Kulikova TA. Some aspects of medical activities to overcome the consequences of the Chernobyl disaster. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2016;56(3): 293-299. DOI: 10.7868/S0869803116030061. (In Russian).
10. Sevankaev AV, Khvostunov IK, Snigiryova GP, Novitskaya NN, Antoschina MM, Fesenko EV, et al. Comparative Analysis of Cytogenetic Examination of Control Groups of Subjects Carried out in Different Russian Laboratories. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2013;53(1): 5-24. (In Russian). DOI: 10.7868/S0869803112060124.
11. Aleksanin SS, Slozina NM, Neronova EG. Emergencies and the human genome. St. Petersburg: Politehnika-service; 2010. 84 p. (In Russian).
12. Ivanov VK. Medical radiological consequences of Chernobyl for the population of Russia: Assessment of radiation risks. Moscow: Medicina; 2002. 392 p. (In Russian).
13. Takhaouov RM, Karpov AB, Zerenkov AG, Ovchinnikov AV, Izmetiev KM, Spasibenko PV, et al. Medical and dosimetric register of the personnel of the Siberian chemical plant – a basis for assessing the effects of chronic exposure. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2015;55(5): 467-473. DOI: 10.7868/S0869803115050124. (In Russian).
14. Takhaouov RM, Karpov AB, Albach EN, Khalyuzova MV, Freidin MB, Litviakov NV, et al. The Bank of Biological Samples Representing Individuals Exposed to Long-Term Ionizing Radiation at Various Doses. *Biopreservation and Biobanking*. 2015;13(2): 72-78. DOI: 10.1089/bio.2014.0035.
15. Kharchenko TV, Arzhavkina LG, Siniachkin DA, Yazenok AV. Chromosomal disorders in workers of chemically hazardous enterprises with the different health status. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2015;94(8): 31-35. (In Russian).
16. Apsalikov KN, Muldagaliev TZh, Belikhina TI, Tanatova ZA, Kenzhina LB. Retrospective analysis and evaluation of the results of cytogenetic studies of Kazakhstan's population has been subjected to radiation and their descendants, as a result of nuclear tests at the Semipalatinsk test site. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeystel'nosti = Medical and Biological Problems of Life Activity*. 2013;9(1): 42-49. (In Russian).
17. Neronova E, Slozina N, Nikiforov A. Chromosome alterations in cleanup workers sampled years after the Chernobyl accident. *Radiation Research*. 2003;160(1): 46-51. DOI: 10.1667/0033-7587(2003)160[0046:CAICWS]2.0.CO;2.
18. Vozilova AV. Assessment of the effect of chronic radiation on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosomal aberrations. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy = Extreme Medicine*. 2023;25(2): 85-90. DOI: 10.47183/mes.2023.015. (In Russian).
19. Pond KW, Doubrovinski K, Thorne CA WNT/ β -catenin Signaling in Tissue Self-Organization. *Genes (Basel)*. 2020;11(8): 939. DOI: 10.3390/genes11080939.
20. Chen G, Chen W, Ye M, Tan W, Jia B. TRIM59 knockdown inhibits cell proliferation by down-regulating the WNT/ β -catenin signaling pathway in neuroblastoma. *Bioscience Reports*. 2019;39(1): BSR20181277. DOI: 10.1042/BSR20181277.
21. Liu J, Xiao Q, Xiao J, Niu C, Li Y, Zhang X, et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1): 3. DOI: 10.1038/s41392-021-00762-6.
22. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*. 2000;405: 847-856. DOI: 10.1038/35015718.
23. Vorobtsova I, Darroudi F, Semyonov A, Kanayeva A, Timofeyeva N, Yakovleva T, et al. Analysis of chromosome aberrations by FISH and Giemsa assays in lymphocytes of cancer patients undergoing whole-body irradiation: comparison of *in vivo* and *in vitro* irradiation. *International Journal of Radiation Biology*. 2001;77(11): 1123-1131. DOI: 10.1080/09553000110075527.
24. Kutsuki S, Ihara N, Shigematsu N, Okamoto S, Kubo A. Relation between chromosomal aberrations and radiation dose during the process of TBI. *Radiation Medicine*. 2005;23(1): 37-42.
25. Khvostunov IK, Kursova LV, Shepel NN, Korovchuk ON, Korotkov VA, Khvostunova TI. Retrospective assessment of the severity of long-term radiation injuries in oncological patients by cytogenetic examination. *Radiatsiya i risk = Radiation and Risk*. 2022;31(3): 87-99. DOI: 10.21870/0131-3878-2022-31-3-87-99. (In Russian).
26. Ivanova TV. Cytogenetic examination methods: opportunities for laboratory diagnostics and information content for the doctor. *Terapevt = Therapist*. 2020;5: 12-19. DOI: 10.33920/MED-12-2005-02. (In Russian).

Received: October 22, 2024

For correspondence: Tatyana V. Vishnevskaya – Junior Researcher, Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency (Chekist Lane, 7, building 2, Seversk, 636013, Russia; E-mail: Vishnevskaya_seversk@mail.ru)

ORCID: 0000-0003-2264-0546

Maria Yu. Tsyplenkova – Junior Researcher, Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

ORCID: 0009-0001-9932-0180

Daria S. Isubakova – Researcher; Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

ORCID: 0000-0002-5032-9096

Olga S. Tsybmal – Researcher; Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

ORCID: 0000-0002-2311-0451

Ivan V. Milto – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Deputy Director for Research, Head of the Department of Molecular and Cellular Radiobiology, Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency; Head of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Ministry of the Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

ORCID: 0000-0002-9764-4392

Ravil M. Takhaouov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Director, Seversk Biophysical Research Center, Federal Medical Biological Agency; Professor of the Department of Healthcare Organization and Public Health, Siberian State Medical University, Ministry of the Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

ORCID: 0000-0002-1994-957X

For citation: Vishnevskaya T.V., Tsyplenkova M.Yu., Isubakova D.S., Tsybmal O.S., Milto I.V., Takhaouov R.M. Assessment of the spectrum and frequency of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of employees of an atomic energy facility during 15 years of work. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2025. Vol. 18, No. 1. P. 18–26. (In Russian). DOI: 10.21514/1998-426X-2025-18-1-18-26