

МИНИСТЕРСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ  
ГРАЖДАНСКОЙ ОБОРОНЫ, ЧРЕЗВЫЧАЙНЫМ СИТУАЦИЯМ  
И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ СТИХИЙНЫХ БЕДСТВИЙ  
Федеральное государственное учреждение здравоохранения  
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины  
имени А.М. Никифорова»

---

С.С. Алексанин, Н.М. Слозина, Е.Г. Неронова

ЧРЕЗВЫЧАЙНЫЕ СИТУАЦИИ И ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Санкт-Петербург  
2010

УДК 575:61:614/87(48)

ББК 28.04+68.9я73

Алексанин С.С., Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Чрезвычайные ситуации и геном человека / Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им А.М. Никифорова МЧС России. – СПб. : Политехника-сервис, 2010. – 84 с.

В монографии обобщены литературные данные и результаты собственных исследований по генетическому обследованию лиц, принимавших непосредственное участие в ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций.

Монография предназначена для широкого круга специалистов в области экстренной и радиационной медицины, медицинских генетиков, биологов, членов экспертных советов, а также аспирантов, студентов и журналистов, интересующихся вопросами влияния мутагенов окружающей среды на организм человека.

Рецензенты:

И.М. Суворов – профессор учебного отдела Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России; доктор медицинских наук профессор;

А.Н. Гребенюк – начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ВМедА им. С.М.Кирова, главный токсиколог-радиолог Мин. обороны России доктор медицинских наук профессор.

ISBN 978-5-904-031-53-4

© Коллектив авторов, 2010

© ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова  
МЧС России, 2010

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ ПРИ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЯХ	5
1.1. Мутагенные факторы физической природы	5
1.2. Мутагенные факторы химической природы	6
1.3. Мутагенные факторы биологической природы	7
1.4. Комплексное воздействие мутагенных факторов при проведении аварийно-спасательных работ	7
ГЛАВА 2. СПОСОБЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ	14
ГЛАВА 3. МУТАГЕННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА	19
3.1. Хромосомные нарушения и болезни	19
3.2. Индивидуальная чувствительность к действию мутагенов	20
ГЛАВА 4. МУТАГЕННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ И ПОТОМСТВО	29
ГЛАВА 5. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ЛИЦ, УЧАСТВОВАВШИХ В АВАРИЙНО – СПАСАТЕЛЬНЫХ РАБОТАХ	35
5.1. Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской АЭС	35
5.2. Пожарные	53
5.3. Сотрудники поисково–спасательных формирований	56
ГЛАВА 6. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭКСПЕРТНОЙ ПРАКТИКЕ	61
6.1. Биологическая дозиметрия и биоиндикация	61
6.1.1. Проведение биологической дозиметрии в ближайшие сроки после радиационного воздействия	62
6.1.2. Проведение биологической дозиметрии в отдаленные сроки после радиационного воздействия	64
6.1.3. Анкетирование обследуемых	66
6.2. Установление связи генетической патологии детей с мутагенными воздействиями на родителей	69
Заключение	71
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	73

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АПФ – ангиотензинпревращающий фермент  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
ВЦЭРМ – ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России  
ЛПА – ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской АЭС  
МКБ – Международная квалификация болезней  
ООН – Организация объединенных наций  
ПАУ – полициклические ароматические углеводороды  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
РАС – ренин-ангиотензиновая система  
ЧС – чрезвычайные ситуации  
FISH – флюоресцентная гибридизация *in situ*

## ВВЕДЕНИЕ

Изменение экологической обстановки, введение в среду обитания новых веществ и соединений, воздействие физических факторов, к которым человек как биологический вид эволюционно не подготовлен, делают актуальным вопрос о генетической опасности мутагенов окружающей среды для человека. При этом если в обычной, повседневной жизни речь идет, как правило, о слабых мутагенных воздействиях, то при чрезвычайных ситуациях “мутагенный джин вырывается из бутылки”. Невозможно остановить научно-технический прогресс: введение в строй новых предприятий, технологий, использование разнообразных химических соединений. Невозможно, к сожалению, и полностью исключить чрезвычайные ситуации из жизни человека. Опасными с точки зрения мутагенных и канцерогенных воздействий являются не только такие аварии, в которых зарегистрирован выброс мутагенов в окружающую среду – например, аварии на ядерных или химических объектах. Мутагенный и канцерогенный риск могут представлять комбинации различных (потенциально мутагенных и даже нейтральных) агентов.

### ГЛАВА 1.

## ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ ПРИ ЧС

### 1.1. Мутагенные факторы физической природы

Ионизирующая радиация является наиболее известным мутагенным фактором физической природы. Многочисленные исследования *in vivo* и *in vitro* на организмах различных уровней организации показали высокий мутагенный потенциал ионизирующего излучения. Существует целое направление научных и научно-прикладных исследований в области генетических эффектов радиации, получившее название «Радиационная генетика».

К экстремальным факторам среды относится также температура. Хорошо известно, что повышение или понижение температуры организма и окружающей среды могут иметь фатальные последствия. Пребывание в условиях неоптимального, с точки зрения физиологии человека, температурного режима требует напряженной работы органов и систем организма по поддержанию его гомеостаза. Полагают, что само по себе изменение температурного режима не оказывает существенного влияния на индукцию мутаций, но может приводить к усилению мутационного эффекта при комплексном воздействии нескольких факторов. Так, в начатых ещё в 1970-х годах под руководством М.Е. Лобашева (Лобашев, 1967) исследованиях

было показано, что высокая температура не является мутагенным фактором. Однако повышенная или пониженная, по сравнению с оптимумом, температура приводит к модификации мутагенного действия не только радиации, но и химических генотоксикантов (Savóia et al., 2009). Целый ряд других факторов физической природы (гипоксия, повышенное давление водной и газовой среды, которому подвергаются люди при глубоководных погружениях, низкочастотный шум и др.) также рассматривается с точки зрения мутагенной опасности (Silva et al., 2002; Shimanskaia et al., 1991).

## 1.2. Мутагенные факторы химической природы

Генотоксическим эффектом обладают многие факторы химической природы. Большое количество соединений, обладающих мутагенной и канцерогенной активностью, попадает в окружающую среду (Худолей, 1999; Srám et al., 2000; Smerhovsky et al., 2001). К сильным мутагенам относятся алкилирующие соединения, нитро- и нитрозосоединения, интеркаляторы и аналоги оснований. Основным свойством, придающим соединению потенциальную мутагенную активность, является наличие сигнальных полярных группировок, определяющих электрофильность вещества. Необходимо учитывать, что многие химические соединения, не обладающие подобными радикалами и непосредственно не являющиеся мутагенами, могут активироваться в результате клеточного метаболизма и приобретать генотоксические свойства. Классическим примером этому является бензопирен. Не являясь мутагеном, бензопирен в клетках подвергается метаболизму с образованием на конечном этапе диолэпоксида, для которого показаны ярко выраженные генотоксические и канцерогенные свойства. Среди опасных с генетической точки зрения химических агентов особого внимания заслуживают диоксины, мутагенные свойства которых хорошо известны. Диоксины являются одним из наиболее значимых факторов мутагенной опасности для современного человека. Диоксины - группа химических соединений, характеризующаяся наличием хлора, связанного с атомами углерода. Сюда входят трициклические ароматические соединения: полихлорированные дибензо-р-диоксины и дибензофураны, полихлорированные бифенилы, поливинилхлорид и ряд других веществ. Диоксины использовались в качестве оружия в химической и биологической войне США во Вьетнаме. За время Вьетнамской войны было распылено более 5 тысяч тонн гербицидов типа «оранжевый агент» (Agent Orange на основе эфиров 2,4-Д), содержащих более 170 кг диоксинов и диоксиноподобных соединений, на площади более 1,2 миллиона гектаров, что нанесло непоправимый урон окружающей среде и здоровью населения. Имели место и другие случаи массового поражения людей и загрязнения территорий

диоксинами. Известна трагедия, произошедшая вследствие аварии на химическом заводе в городе Севезо, Италия. В 1976 г. в результате взрыва рабочего котла произошел выброс производимого трихлорфенола в атмосферу, после чего от 1 до 5 кг побочного продукта диоксина было распылено на территории 30 квадратных километров вокруг эпицентра. Отравление диоксином вызвало многочисленные негативные последствия для здоровья пострадавших, в том числе – и рост частоты онкологических заболеваний (Ambrus et al., 2004; Consonni et al., 2008; Zambon et al., 2007).

Диоксины являются чрезвычайно устойчивыми к химическому и биологическому разложению. Они способны длительное время сохраняться в окружающей среде, концентрироваться в биомассе и переноситься по пищевым цепям. Диоксины и диоксиноподобные вещества непрерывно и во все возрастающих количествах генерируются цивилизацией, выбрасываются в окружающую среду и накапливаются в ней.

В работе А.Н. Гребенюка и соавторов (2009) приводится список химических агентов, выброс которых регистрировался при ЧС на территории нашей страны. Большая часть указанных в нем веществ и соединений обладает мутагенными свойствами.

### 1.3. Мутагенные факторы биологической природы

Генотоксическая активность показана для ряда факторов биологической природы, таких, как некоторые бактерии и вирусы, продукты жизнедеятельности штаммов плесневых грибов и т.д. Особого внимания заслуживает стресс, который является одной из наиболее характерных составляющих экстремальных воздействий. В состоянии стресса происходит индукция мутаций в половых и соматических клетках млекопитающих, при этом стресс может модифицировать генотоксический эффект ряда химических соединений (Ингель и др., 2002; Слозина и др., 1990; Dimitroglou et al., 2003).

### 1.4. Комплексное воздействие мутагенных факторов при проведении аварийно-спасательных работ

При ЧС человек подвергается действию широкого спектра повреждающих факторов физической, химической, биологической природы. Как правило, имеет место комплексное воздействие целого ряда повреждающих агентов на фоне психо-эмоционального стресса. ЧС, в зависимости от их масштабов, затрагивают различные по размеру и составу группы людей. Только одна категория лиц почти постоянно присутствует при ЧС – это спасатели – лица, которые занимаются спасением людей, разрешением

опасных ситуаций и ликвидацией последствий аварии. В настоящее время в России этой деятельностью занимаются профессиональные спасатели МЧС России, к которым теперь относятся и сотрудники противопожарной службы. Перечень опасных и экстремальных факторов труда спасателей МЧС России весьма широк. Спасатели принимают участие в тушении пожаров, ликвидации последствий аварий и катастроф техногенного и природного характера, ликвидации радиационного и химического загрязнения территорий, выполняют работу в особо тяжелых и опасных условиях, постоянно подвергаются психо-эмоциональному стрессу. Для многих факторов, с которыми контактируют спасатели, выявлена генотоксическая и канцерогенная активность. Так, показано, что пожарные во время тушения пожаров подвергаются воздействию повышенных концентраций соединений, обладающих мутагенными свойствами: бензола, полициклических ароматических углеводородов, ряда хлорсодержащих углеводородов, таких, как хлороформ, тетрахлорметан, винилхлорид (Caux et al., 2002; Stefanidou et al., 2004). В работе И. Колычевой и О. Лахман (2006), приводится перечень химических факторов зоны задымления и возгорания (табл. 1.1 и 1.2).

Опасность представляют не только крупные пожары на химических или ядерных предприятиях, но и так называемые «горящие свалки». К сожалению, в нашей стране надлежащим образом не налажена система утилизации бытовых отходов. В мае 2008 г Санкт-Петербургским Экологическим союзом был представлен аналитический обзор по проблеме мусорожигания: экологические аспекты (С.М. Гордышевский, <http://www.ecounion.ru/ru/site.php>), в котором подчеркивается опасность для здоровья человека и окружающей среды полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), и диоксинов, выделяющихся при сжигании мусора. Автор приводит таблицу канцерогенной и биологической опасности ПАУ, выделяющихся при горении мусора (табл. 1.3). Сжигание пластмассовых бутылок, канистр, мебели, пропитанной пентахлорфенолом, термическое уничтожение одноразовой посуды, пищевой пленки, углеводородных пластиков влечет за собой образование канцерогенных ПАУ. При горении резины, помимо ПАУ, выделяется канцерогенно опасная сажа с окислами серы. При горении поролона, нейлона, синтетических тканей, линолеума, изоляционных материалов, пластмассовых игрушек, полиэтиленовой тепличной пленки выделяется в общей сложности до 70 наименований токсических веществ, одним из самых опасных с точки зрения мутагенных эффектов являются диоксины.

Спасатели и пожарные, прибывая на место аварии, не могут предвидеть, с какими мутагенными или потенциально мутагенными факторами они будут контактировать при той или иной ЧС. Даже если основной ис-

точник опасности известен – например, утечка токсичных газов – невозможно учесть все дополнительные факторы, которые, в конечном счете, могут привести к возникновению мутагенных и канцерогенных эффектов. Использование специальных средств защиты не является абсолютной гарантией безопасности от вредных воздействий (Edelman et al, 2003; Fireman et al., 2004). Помимо физико-химических факторов мутагенеза опасность для генетического здоровья представляет стресс. Трудовая дея-

**Таблица 1.1**

Характеристика основных химических факторов зоны задымления очагов возгорания (Кольчева, Лахман, 2006)

Химические факторы	Нормативный уровень	Фактические значения среднее (мин. – макс.)	Превышение средних значений ПД (раз)	Пробы превышающих пдк, %
Винилхлорид (1-й класс опасности), мг/м <sup>3</sup>	5	7,4 (5,3–8,6)	1,56	100
Цианистый водород, (1-й класс опасности), мг/м <sup>3</sup>	0,3	2,0 (0,15–4,8)	6,7	88,8
Хлороводород (2-й класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	5	41,4 (2,7–106,2)	8,3	91,7
Формальдегид (2-й класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	0,5	58,8	117,6	93,7
Бензол (2 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	15	21,4 (2,1–38,4)	1,4	61,1
Хлороформ (2 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	5	41,4 (0,4–103,2)	8,3	11,1
Серы диоксид (2 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	10	65,4 (0,17–462,0)	6,5	91,9
Азота диоксид (3 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	5	15,3 (0,025–39,6)	3,1	92,3
Толуол (3 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	150	11,9 (2,08–28,9)	-	0
Углерода оксид (4 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	20	1246,2 (16,6–25500)	62,3	93,8
Сумма углеводов (4 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	900	1246,2 (1,5–1500)	1,4	63,8
Ацетон (4 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	200	35,3 (19,4–60,4)	-	0
Этилацетат (4 класс опасности) мг/м <sup>3</sup>	200	30,2 (24,8–33,0)	-	0

**Таблица 1.2**

Классификация пожаров в зависимости от вида горящего материала  
и их гигиеническая характеристика (Колычева, Лахман, 2006)

Вид горящего материала (объект пожара)	Токсические вещества, выделяющиеся в воздух рабочей зоны	ПД, мг/м <sup>3</sup>	Средние концентрации, мг/м <sup>3</sup>	Особенности действия на организм	Класс условий труда в соответствии с Руководством Р 2.2.755-99
Древесина (деревянные дома, постройки)	СО *	20	639,2	О	4-й (опасный)
	Хси-сio *	900	156,2	О	1-й (допустимый)
	SO <sub>2</sub>	10	24,1	Р	3,2-й (вредный)
	NO <sub>2</sub> *	5	14,0	Р	3,2-й (вредный)
	Формальдегид*	0,5	15,6	А, Р, М, Э	4-й (опасный)
Горюче-смазочные материалы, краска, резина (гаражи)	СО*	20	2496,7	О	4-й (опасный)
	Хси-сio *	900	122,2	О	1-й (допустимый)
	SO <sub>2</sub>	10	28,6	Р	3,2-й (вредный)
	NO <sub>2</sub> *	5	19,0	Р	3,2-й (вредный)
	Формальдегид*	0,5	69,2	А, Р, М, Э	4-й (опасный)
	НСl	5	39,7	О	3,4-й (вредный)
	Винилхлорид	5	4,2	К	1-й (допустимый)
	Бензол	15	25,2	Н, Р, К, М	3,1-й (вредный)
	Толуол	150	16,2	От, Р, Н	1-й (допустимый)
ДСП, ДВП, ФРП (производственные объекты: цеха, склады)	СО*	20	1737,4	О	4-й (опасный)
	Хси-сio *	900	629,7	О	1-й (допустимый)
	SO <sub>2</sub>	10	17,5	Р	3,2-й (вредный)
	NO <sub>2</sub> *	5	25,3	Р	3,2-й (вредный)
	Формальдегид*	0,5	99,7	А, Р, М, Э	4-й (опасный)
	НСl	5	69,3	О	4-й (опасный)
	Бензол	15	37,4	Н, Р, К, М	3,1-й (вредный)

	Толуол	150	27,6	От, Р,Н	1-й (допустимый)
	Винилхлорид	5	6,0	К	3,1-й (вредный)
Изделия из ПВХ, полистирола (офисные помещения)	СО*	20	225,0	О	4-й (опасный)
	Zci-cio *	900	46,0	О	1-й (допустимый)
	SO <sub>2</sub>	10	17,5	Р	3,1-й (вредный)
	NO <sub>2</sub> *	5	36,1	Р	3,4-й (вредный)
	Формальдегид	0,5	5,0	А, Р, М, Э	3,4-й (вредный)
	HCl	5	51,0	О	4-й (опасный)
	Винилхлорид	5	4,4	К	1-й (допустимый)
Изделия из полистирола с акрилонитрилом (производственные объекты)	СО*	20	127,7	О	3,4-й (вредный)
	Zci-cio *	900	33,8	О	1-й (допустимый)
	Формальдегид	0,5	8,2	Н, Р, К, М	4-й (опасный)
	HCN	0,3	41,0	О	4-й (опасный)
	NO <sub>2</sub> *	5	24,6	Р	3,3-й (вредный)
Изделия из пенополиуретана (производственные объекты)	СО*	20	24,9	О	3,1-й (вредный)
	Xci-cio *	900	26,4	О	1-й (допустимый)
	HCl	5	5,5	О	1-й (допустимый)
	HF	0,5	1,1	О	3,1-й (вредный)
	Формальдегид	0,5	10,5	Н, Р, К, М	4-й (опасный)

Условные обозначения:

\* – вещества, обладающие эффектом суммации; О – вещество, опасное для развития острого отравления; От – общетоксический эффект; Р – раздражающий эффект; А – аллерген; К – канцероген; М – мутагенное действие; Э – эмбриотропное действие.

**Таблица 1.3**

Относительная канцерогенность различных ПАУ  
(по Гордышевскому С.М.)

Соединение	Канцерогенный потенциал	Биоактивность
2-метилнафталин	0	TP
Флуорантен	0	CC
2-Метилфлуорантен	+	C, TI
3-Метилфлуорантен	?	TI
Пирен	0	CC
Бенз[а]антрацен	+	TI
Хризен	+	TI
Бенз[с]фенантрен	+++	C
3-Метилхризен	+	TI
5-Метилхризен	+++	C, TI
7,12-Диметилбенз[а]антрацен	++++	C, TI
Бенз[b]флуорантен	++	C, TI
Бенз[j]флуорантен	++	C, TI
Бенз[а]пирен	+++	C, TI
Дибенз[а,h]антрацен	+++	C, TI
Индено[1,2,3-cd]пирен	+	TI
Бенз[ghi]перилен	0	CC
Пицен	+	TI

Условные обозначения: ? – неопределенно; 0 – неактивно; от + до ++++ – активный с разной степенью активности; CC – соканцерогенен с бенз[а]пиреном. TP, TI – соединения, способные вызывать опухоли разного характера; C – полный канцероген.

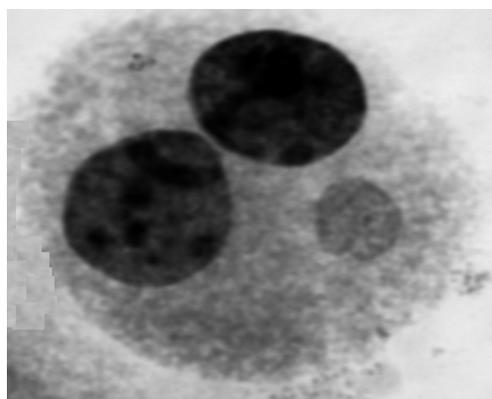
Активность спасателей не только сопряжена с воздействием разнообразных опасных и вредных факторов, но и сопровождается высокими физическими и психо – эмоциональными нагрузками (Austin et al., 2001; Durkin, 2001). Стресс вызывается не только самими психо-эмоциональными и интеллектуальными нагрузками, но и состоянием ожидания вызова на ЧС. При этом следует учитывать возможность кумулятивного эффекта воздействия стресса и иных мутагенных факторов.

Теоретически, контакт человека с мутагенными агентами может быть зарегистрирован с помощью приборов химического, радиационного контроля. Однако, на практике, в условиях реальных ситуаций оценить интенсивность мутагенной нагрузки достаточно трудно, к тому же, имеет место сочетанное действие различных веществ и агентов.

Вместе с тем, для участника событий важна не столько концентрация тех или иных вредных веществ в очаге ЧС, сколько степень мутагенного воздействия всех этих факторов на его организм.

## ГЛАВА 2. СПОСОБЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Существуют различные методические подходы и тест-системы, позволяющие выявлять влияние неблагоприятных факторов внешней среды на генетические структуры клеток и прогнозировать риск таких воздействий для здоровья человека (Дурнев и др., 1998; Bonassi et al., 2002). Несмотря на большое разнообразие методов оценки мутагенной нагрузки в популяциях человека, ведущая роль в биодозиметрии и биоиндикации мутагенных факторов принадлежит цитогенетическим методам исследования (Albertini et al., 2000; Nagmar et al., 2001; Kanda 2000; Norppa, 2004a). Разработано большое количество методов цитогенетического анализа. Каждый из них имеет свои преимущества, но и свои ограничения. Так, метод анализа сестринских хроматидных обменов – учет частоты обменов между соседними хроматидами хромосомы – оказался малоэффективным в отношении радиационного фактора (Huttner et al., 1999). Его целесообразно использовать в случаях комплексных воздействий с тем, чтобы выявить наличие мутагенов химической природы. Изучение микроядер в культуре лимфоцитов периферической крови человека сравнительно недавно стали использовать в мониторинге популяций, подверженных действию мутагенов окружающей среды (Fenech, 1993). Микроядра, обнаруживаемые в клетках на стадии интерфазы, образуются из целых хромосом или их фрагментов, которые отстали во время митотического деления клетки и не были включены в дочерние ядра. Эти тельца в цитоплазме изолируются отдельной ядерной мембраной и по внешнему виду сходны с главным ядром, отличаясь от него меньшими размерами (рис. 2.1).



**Рис. 2.1.** Микроядро в бинуклеарной клетке.

Величина микроядер зависит от типа хромосомных повреждений, приведших к их образованию: микроядра, образовавшиеся из хромосомных фрагментов, меньше по величине, чем микроядра из оставших хромосом. Существует также специфика образования микроядер в ответ на действие различных мутагенов – в лимфоцитах человека после облучения из ацентрических фрагментов хромосом формируются кинетохоротрицательные микроядра, после воздействия химических мутагенов, индуцирующих анеуплоидии (биномил, винбластин – сульфат) формируются кинетохорположительные микроядра. Образование микроядер происходит во время клеточного деления. Для определения частоты микроядер необходимо отбирать клетки, прошедшие только одно митотическое деление в культуре, так как последующие митозы приводят к элиминации клеток с микроядрами. Применение цитохалазина В (препарата, который блокирует деление цитоплазмы клеток) дало возможность выявлять и анализировать лимфоциты, завершившие первое клеточное деление в культуре. В последнее время модификация микроядерного теста с использованием цитохалазина В стала стандартной. Относительная простота лимфоцитарного микроядерного теста, большее количество клеток, пригодных для анализа, привлекают внимание исследователей. Современные молекулярно-генетические модификации этого метода (флюоресцентная гибридизация с центромерным пробамми) позволяют быстро и точно устанавливать природу выявляемых микроядер (Lindberg et al., 2008, Pacchierotti, Sgura, 2008). На практике метод анализа микроядер используется, как правило, параллельно с другими методами биодозиметрии.

В качестве скринирующих предлагаются также способы анализа микроядер в клетках эпителия ротовой полости, мочевого пузыря, дыхательных путей и др. Этими способами в ряде случаев удавалось выявить мутагенный эффект при прямом контакте мутагена с клетками. Применительно к действию радиационного фактора анализ микроядер в эпителии может быть приложен к ограниченному числу ситуаций (например, в случае инкорпорации радионуклидов в дыхательных путях или в пищеварительном тракте).

Еще одним цитогенетическим методом учета мутагенных воздействий является метод индукции преждевременной конденсации хромосом. В основу метода положена способность интерфазных ядер к конденсации хромосом под действием "хромосомконденсирующего фактора", в качестве которого могут выступать митотически делящиеся клетки (например, клетки яичника китайского хомячка), гипертермия и некоторые химические агенты. Если лимфоциты не подвергались действию мутагенов, в результате процесса преждевременной конденсации выявляется 46 одиночных хроматид. Под влиянием мутагена происходят разрывы хроматиновых

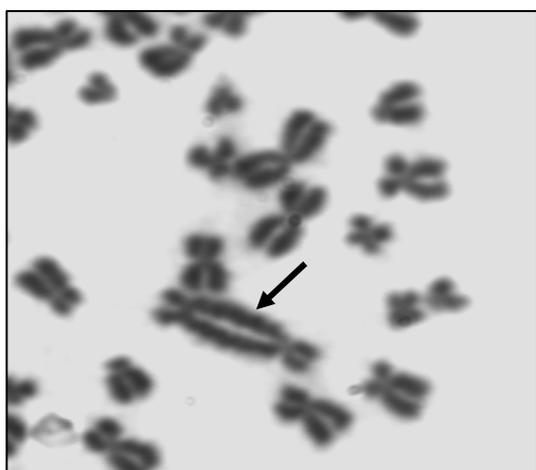
нитей и число хроматиновых фигур увеличивается. Цитогенетический анализ сводится к подсчету количества хроматиновых фигур (46 или больше). Метод сравнительно быстрый – результаты могут быть получены уже через несколько часов после воздействия. Согласно литературным данным, частота нарушений, выявляемых с применением этого метода, может в 40 раз превышать результаты, получаемые другими цитогенетическими методами, за счет исключения процессов репарации и интерфазной гибели клеток. К преимуществу метода можно отнести и возможность анализа хромосомных aberrаций при воздействии высоких доз радиации (более 5 Гр), когда клетки в значительной степени теряют способность пройти митоз. В экспериментах *in vitro* получена линейная зависимость частоты нарушений от дозы облучения. Новые перспективы в развитии метода преждевременной конденсации хромосом связаны с применением флуоресцентной *in situ* гибридизации с цельнохромосомными пробами для более быстрого и точного учета хроматиновых фрагментов, индуцированных мутагеном. Существенным недостатком метода является то, что анализ нарушений производится до синтеза ДНК. Следовательно, с помощью метода преждевременной конденсации хромосом невозможно выявлять aberrации хроматидного типа, которые индуцируются химическими агентами. Вместе с тем, в области биодозиметрии ионизирующего излучения метод преждевременной конденсации хромосом, возможно, найдет практическое применение.

Основным способом учета мутагенных воздействий в настоящее время является анализ нестабильных хромосомных aberrаций. В принципе хромосомный комплекс может быть проанализирован во всех делящихся клетках. На практике применительно к человеку используется метод анализа нестабильных хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови и в клетках костного мозга. На рис. 2.2 представлены некоторые типы хромосомных aberrаций, выявляемые при цитогенетическом исследовании.

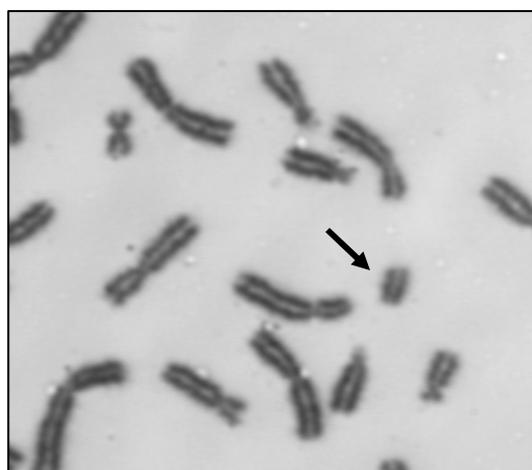
Разрешающая способность цитогенетического анализа зависит от способа окрашивания хромосом. Так, при тотальном окрашивании (рис. 2.2) могут быть выявлены числовые aberrации, а также хромосомные и хроматидные обмены и фрагменты, принадлежащие к так называемому нестабильному типу хромосомных aberrаций. Учет этих типов нарушений необходим и достаточен для оценки мутагенной нагрузки в ближайший период после контакта с мутагенами. Однако, с течением времени происходит элиминация клеток из кровотока и анализ мутагенной нагрузки на основании нестабильных aberrаций становится невозможным.

Память об имевшем место мутагенном воздействии сохраняется в виде стабильных хромосомных aberrаций – цитогенетических нарушений,

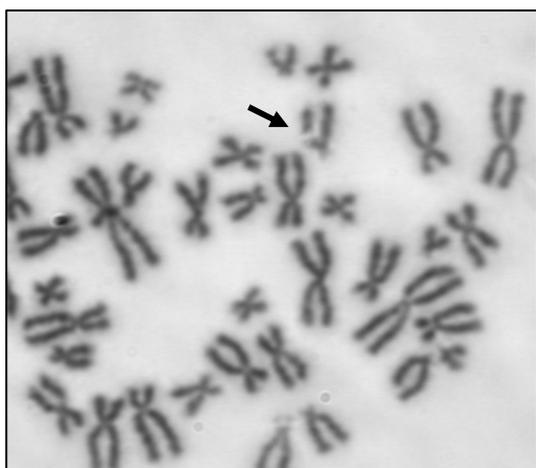
не приводящих клетку к гибели и не препятствующих ее делению. Если такие нарушения возникают в клетках-предшественниках (в кроветворной ткани), то в кровоток регулярно поступают лимфоциты, несущие стабиль-



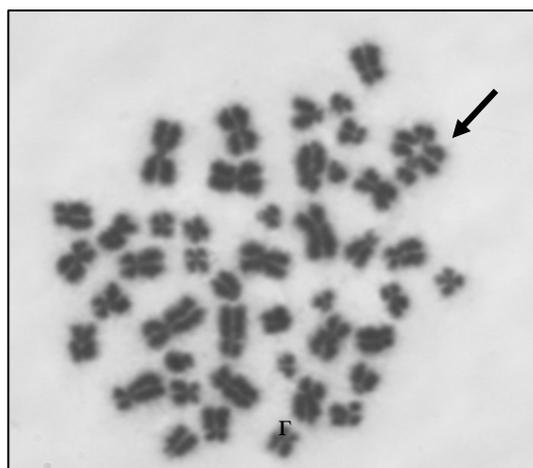
а



б



в



г

**Рис. 2.2.** Некоторые типы хромосомных aberrаций, наблюдаемые в лимфоцитах периферической крови

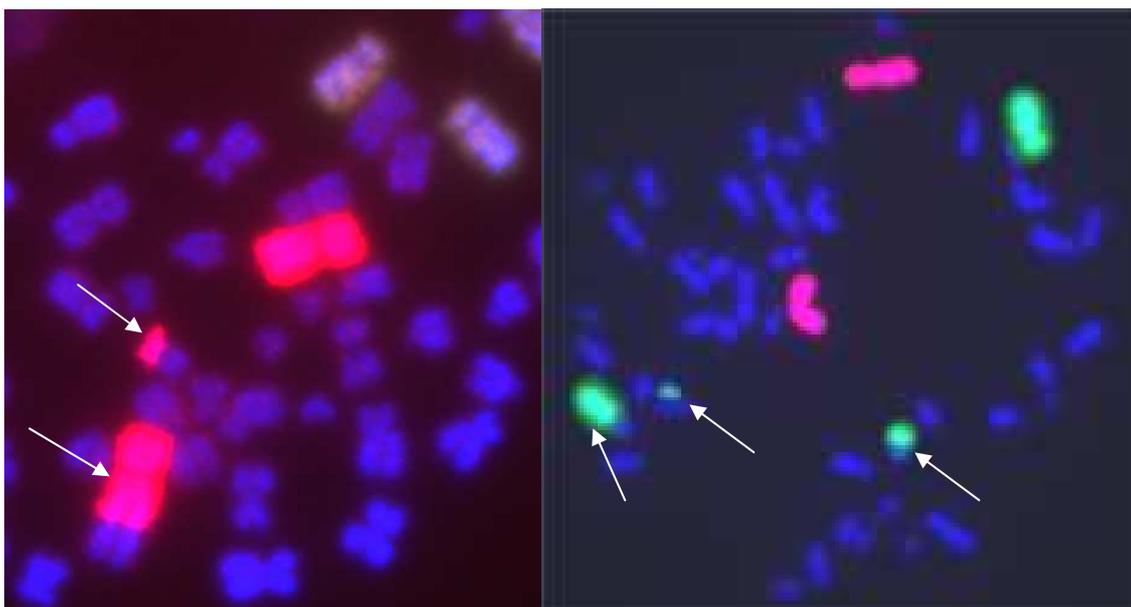
а – дицентрическая хромосома; б – парный фрагмент;

в - одиночный фрагмент; г – хроматидный обмен

ные хромосомные aberrации. Выявить такие нарушения возможно с помощью методов дифференциального окрашивания хромосом (G, Q, R и других). Эти методы очень точны, они позволяют распознать широкий спектр нарушений, но требуют больших временных затрат и по этой причине не используются на практике для оценки мутагенных воздействий.

Одиночные фрагменты, межхроматидные обмены чаще наблюдаются при контакте с химическими мутагенами, тогда как дицентрические и кольцевые хромосомы характерны для действия радиации.

Значительно сократить время анализа стабильных хромосомных aberrаций дает возможность молекулярно-цитогенетический метод – так называемый «пейнтинг» хромосом. Он основан на применении нерадиоактивной (флюоресцентной) гибридизации *in situ* – FISH с использованием наборов хромосомспецифических зондов, в результате чего стабильные хромосомные aberrации (обменные aberrации между хромосомами), неразличимые при тотальном окрашивании, становятся хорошо видимыми (рис. 2.3). Разработаны дозовые кривые для стабильных хромосомных aberrаций, выявляемых методом FISH при обработке лимфоцитов периферической крови *in vitro* различными видами ионизирующих излучений. Показано, что за небольшим исключением, основанная на FISH кривая доза – эффект, определенная *in vitro*, соответствует дозовым данным. Имеются примеры успешного применения метода FISH с целью ретроспективной оценки дозы облучения при чрезвычайных ситуациях.



**Рис. 2.3.** Хромосомы человека, окрашенные по методу FISH.  
Стрелками отмечены транслоцированные хромосомы.



Связь между повышенной частотой хромосомных aberrаций и генетической предрасположенностью к онкологическим заболеваниям хорошо известна на примере так называемых синдромов с хромосомной нестабильностью – панмиелопатии Фанкони, синдроме Блюма, атаксии-телеангиэктазии и других (Online Mendelian Inheritance in Man – [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). У больных, страдающих этими заболеваниями, в культивированных клетках крови с высокой частотой выявляются дицентрические хромосомы, хроматидные обмены и хромосомные фрагменты. Высокая частота хромосомных aberrаций при данных заболеваниях обусловлена врожденными нарушениями ферментов репарации, ответственными за различные этапы восстановления поврежденной ДНК. Ошибки работы системы репарации, в свою очередь, приводят к росту вероятности развития онкопатологии.

Повышение уровня хромосомных aberrаций значимо и для здоровых на момент обследования лиц. В ходе эпидемиологического анализа, выполненного исследовательскими группами Северных стран и Италии, проанализировали показатели заболеваемости в когорте из более, чем 5000 доноров, прошедших цитогенетическое обследование 10–20 лет назад (Bonassi et al., 2000; Nagmar et al. 1998a; Nagmar et al., 1998b). В зависимости от частоты хромосомных aberrаций обследуемые были подразделены на 3 группы: 0,1–3,3 % – низкая частота; 3,4–6,6 % – средняя; 6,7–10 % – высокая частота. Ретроспективный анализ связи показателей здоровья в настоящий момент с уровнем хромосомных aberrаций, определенным много лет назад, показал, что среди лиц, имевших в прошлом высокий уровень хромосомных aberrаций, значимо выше общая частота онкологических заболеваний. Следовательно, наличие повышенного уровня хромосомных aberrаций может рассматриваться какстораживающий фактор в отношении развития онкопатологии (Norppa et al., 2006).

Таким образом, на основании данных, накопленных в результате цитогенетического анализа соматических клеток опухолей, обследования больных с синдромами с хромосомной нестабильности и результатов эпидемиологических исследований, принято рассматривать лиц с повышенной частотой хромосомных aberrаций в соматических клетках как группу риска и рекомендовать мониторинговое наблюдение с целью раннего выявления онкологических заболеваний.

### 3.2. Индивидуальная чувствительность к действию мутагенов

Мутагенная нагрузка, которой подвергаются лица при чрезвычайных ситуациях, для разных людей может иметь неодинаковые последствия. Это определяется не только возрастом, полом и/или состоянием здоровья на

момент ЧС. Реакции организма на те или иные внешнесредовые воздействия в значительной степени обусловлена генетически, так как абсолютное большинство заболеваний возникает в результате взаимодействия генов с окружающей средой. Заболевания, для которых показан вклад генетической компоненты в их развитие, принято называть болезнями с наследственной предрасположенностью. В табл. 3.1 приведены частоты некоторых из этих заболеваний.

О существовании наследственной предрасположенности к развитию заболеваний было известно задолго до расшифровки природы этого явления. Так, представление о «семьях со слабыми легкими» или «слабым же-

**Таблица 3.1**

Распространенность некоторых заболеваний с наследственной предрасположенностью (по Н.П. Бочкову, 2002)

Группы и нозологические формы	Распространённость на 1000 человек (в соответствующей возрастной группе)
<b>Врождённые пороки развития:</b>	
расщелина губы и нёба	1-2
спинномозговая грыжа	1
анэнцефалия и черепно-мозговая грыжа	1
вывих бедра	2-5
гидроцефалия	0,5
гипоспадия	3
косолапость	5
<b>Психические и нервные болезни:</b>	
шизофрения	10-20
эпилепсия	8-10
маниакально-депрессивный психоз	2-5
рассеянный склероз	0,02-0,7
<b>Соматические болезни среднего возраста:</b>	
псориаз	10-20
бронхиальная астма	2-5
язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	20-50
ишемическая болезнь сердца	50-100
гипертоническая болезнь	10-200
диабет	10-20

лудком» издавна существовало не только на уровне медицинской практики, но и в широких слоях населения. Врожденными особенностями объясняли и то, что разные люди по-разному реагируют на неблагоприятные внешние воздействия – колебания температуры, воздействия дымов, смол и т.д. Механизмы этих «врожденных особенностей» или генетической

предрасположенности стали раскрываться по мере изучения генетического полиморфизма.

Под генетическим полиморфизмом в широком смысле понимают разнообразие геномов, приводящее к тому, что все индивидуумы в пределах одного вида отличаются друг от друга. Применительно к человеку генетический полиморфизм – это генетическая вариабельность, обуславливающая межиндивидуальные различия как по внешним признакам, так и по особенностям реализации физиологических и психических процессов. Материальной основой этих различий является ДНК – ее специфические особенности на молекулярном уровне, совместимые с нормальной функцией генов, но приводящие к некоторым вариациям в структуре белков и т.д., что, в конечном счете, обуславливает генетически детерминированные индивидуальные черты человека. Понятие генетического полиморфизма тесно связано с представлением о мутационном процессе. По сути своей, полиморфные варианты гена – это мутации, так как изменения затрагивают структуру ДНК. Условно, в настоящее время мутациями принято считать такие состояния гена, которые приводят к патологическим изменениям и встречающиеся в популяции с частотой менее 1%, тогда как частота полиморфных вариантов в популяции весьма значительна, и их влияние на фенотип не столь очевидно. В настоящее время гены предрасположенности активно изучаются как в нашей стране, так и за рубежом (Баранов и др.; 2000, Saadi et al., 2009; Polonikov et al., 2009 и мн. др.).

В качестве одного из основных методических приемов для доказательства значимости того или иного полиморфизма в развитии патологии используется сравнение частоты изучаемых генов среди больных и здоровых лиц. Если определенные гены значимо чаще встречаются среди больных с изучаемой патологией, их относят к генам предрасположенности к данному заболеванию. С популяционной точки зрения важно изучение тех генов, частота полиморфизма/мутаций по которым в популяции достаточно высока. Список генов, в той или иной степени ассоциированных с развитием заболеваний, весьма обширен и постоянно пополняется.

При изучении генетического вклада в развитие патологии большое внимание уделяется сердечно-сосудистым заболеваниям. Оценка вклада генетических факторов в развитие недостаточности кровообращения является перспективным подходом, направленным на прогнозирование заболеваний до появления их клинических проявлений (Abraham et al., 2002). Известны работы по выявлению генетических факторов развития хронической сердечной недостаточности у больных с дилатационной кардиомиопатией: в частности, у этих больных выявлялись мутации в различных участках генов, отвечающих за синтез белков дистрофина и актина (Ortiz-Lopez et al., 1997). Показано, что любая мутация гена дистрофина приводит

к дефициту этого миокардиального белка, в результате чего в миокарде отсутствуют дистрофинассоциированные гликопротеиды, отвечающие за связывание мультипротеинного комплекса с белками экстрацеллюлярного матрикса. Результатом этого является дезорганизация кардиомиоцитов, ведущая к изменению механической модели миокарда, нарушению его насосной функции и хроническая сердечная недостаточность.

Среди генов – кандидатов на роль ответственных за кардиоваскулярные заболевания наибольшего внимания заслужили гены, контролируемые компоненты ренин-ангиотензиновой системы. В регуляции этой системы задействовано большое число генетически детерминированных компонентов. В настоящее время ведется изучение генетического полиморфизма по различным составляющим этой системы и оценка связи тех или иных полиморфных вариантов с развитием кардиальной патологии (Baudin 2002; Herrmann et al., 2002; Jalil et al., 2002; Larisa et al., 2002). Наибольшее число работ посвящено изучению гена ACE ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). АПФ катализирует реакцию превращения неактивного декапептида ангиотензина I в активный октапептид ангиотензин II – один из ключевых компонентов РАС. Именно этой системе придают особое значение в развитии таких хронических заболеваний как артериальная гипертензия, сердечная недостаточность и ряда других. При этих заболеваниях показана повышенная активность РАС в плазме крови и местных РАС в различных органах. Уровень АПФ в организме зависит от степени экспрессии гена ACE, локализованного в длинном плече 17 хромосомы. В гене ACE показан инсерционно-делеционный полиморфизм определенной нуклеотидной последовательности. В зависимости от наличия или отсутствия этой последовательности в обоих аллелях гена ACE всех людей по генотипу можно разделить на инсерционных гомозигот (II), гетерозигот (ID) и делеционных гомозигот (DD). Уровень АПФ повышен в крови у DD и понижен у II. Гетерозиготы по этому показателю занимают промежуточное положение. DD генотип коррелирует с повышенной тяжестью течения болезни у пациентов с IgA нефропатией, ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, инсулин независимым сахарным диабетом. Как показали исследования последних лет, полиморфизм по гену ACE влияет на физическую работоспособность человека, его способность эффективно отвечать на тренировочный процесс (Woods et al., 2001; Woods et al., 2002 и др.). Лица с генотипом DD в ответ на физические нагрузки значительно быстрее других наращивают силу скелетных мышц в процессе физических тренировок, однако при этом у них возрастает масса левого желудочка сердца и увеличивается вероятность развития сердечно-сосудистых заболеваний. Лица с генотипом DD – могут быть высококлассными спринтерами, пловцами на короткие дистанции. Лица с генотипом II

– способны к достижению высоких результатов в таких видах спорта, где требуется выносливость – велогонки, бег на длинные дистанции, альпинизм.

В настоящее время диагностика генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям выходит из стадии научных разработок и активно внедряется в практику работы различных клиник не только за рубежом, но и в нашей стране.

Значителен вклад генетических факторов и в развитие бронхолегочной патологии. Эпидемиологические исследования выявили семейную предрасположенность к астме и бронхиальной гиперреактивности и атопии. Исследования с близнецами и семьями также подтверждают генетическую предрасположенность к хроническим обструктивным заболеваниям легких. Таким образом, семейные, близнецовые и генетико-эпидемиологические исследования установили важную роль наследственности в детерминации атопической и других форм заболевания. Развитие молекулярно-генетических технологий позволило перейти к поиску конкретных генов, ответственных за формирование патологического состояния. Учитывая сложность этиологии и патогенеза астмы, складывающихся на основе взаимодействия результатом комплекса взаимодействий между генами и окружающей средой, наиболее вероятной является гипотеза о мультифакториальной природе заболевания. У генетически чувствительных индивидуумов определенные воздействия окружающей среды могут приводить к ранней астме. Другие воздействия или другие восприимчивости могут приводить к хроническому воспалению и прогрессированию астмы. Известен целый ряд генов, ассоциированных с развитием этого заболевания: наибольший интерес сфокусирован на генах интерлейкина IL-4 и IL-13 (2 цитокина, вовлекаемых в процесс стимуляции В-лимфоцитов в продукцию иммуноглобулина E) и IL-4R (распространенный рецептор, через который действуют IL-4 и IL-13). У лиц, обладающих алелями IL-13 и IL-4R, риск развития астмы повышается в 4–5 раз. Карта множественных генов чувствительности к астме разрабатывается. В последние годы внимание исследователей привлекли также гены CC16, NAT2, GSTT1, GSTP1, GSTM1. Так, показано, что лица с нулевым генотипом по GSTM1 в случае пристрастия к курению обладают повышенной склонностью заболеть тяжелым хроническим обструктивным бронхитом.

Анализ генов предрасположенности в настоящее время представляет не только теоретический интерес, но находит применение на практике (Методические ..., 2009). В табл. 3.2 представлен лишь очень небольшой фрагмент из списка генов, анализ которых производится для целей практической медицины.

**Таблица 3.2**

Примеры рекомендуемых к исследованию генов для изучения генетической предрасположенности к некоторым заболеваниям и патологическим состояниям

Заболевания и патологические состояния	Гены
Сердечно-сосудистая патология	ACE, NOS3, APOE, MTHFR, AGTR1
Тромбофилия	F5, F2, FGB, PAI1, MTHFR, GPIIIA
Бронхо-легочная патология	GSTM1, GSTT1, GSTP, mEPHX, CYP1A1, NAT-2, NOS1, IL4, IL4R, TNFA
Постменопаузный остеопороз	VDR, COL1A1, CALCR, BGP, ESR1
Эндометриоз	GSTM1, NAT-2, CYP1B2
Привычное невынашивание	GSTM1, GSTT1, GSTP1, MTHFR, MTRR

Генетический полиморфизм в значительной степени определяет и реакцию организма на действие мутагенов и канцерогенов окружающей среды. Имеется большое количество исследований, результаты которых позволяют утверждать, что уровень индуцированных мутационных повреждений зависит от генотипа человека. Широкая индивидуальная вариабельность ответа организма на генотоксические воздействия химических мутагенов была показана при анализе различных цитогенетических показателей в лимфоцитах периферической крови (Télez et al., 2000; Bonassi, Votta, Baan, Orsièr, 2008, Норрра, 2004). Гетерогенность популяции наблюдалась и при изучении индуцированных радиацией хромосомных aberrаций (Karahalil et al., 2002).

Индивидуальная чувствительность к действию мутагенов в значительной степени зависит от набора генов, ответственных за детоксикацию ксенобиотиков. Попав в организм, вредные вещества разлагаются в два этапа: сначала подвергаются ферментативной модификации (I фаза детоксикации), а затем промежуточные метаболиты превращаются в растворимые соединения и выводятся (II фаза детоксикации). С феноменом генетического полиморфизма ферментов, метаболизирующих чужеродные для организма химические соединения у человека впервые столкнулись фармакологи. Было отмечено, что в популяции существуют индивиды, резко отличающиеся по толерантности к тем или иным лекарственным препаратам (Ingelman-Sunberg, 2001). В дальнейшем прямыми исследованиями

было показано, что различия определяются разной активностью ферментных систем, метаболизирующих эти препараты. Различающаяся активность, в свою очередь, обусловлена генетическим полиморфизмом. На сегодняшний день генетический полиморфизм выявлен для целого ряда ферментов, участвующих в детоксикации ксенобиотиков. Скорость работы ферментов детоксикации определяется различными вариантами генов, которые кодируют эти ферменты. При сочетании высокой активности ферментов первого этапа и низкой на втором этапе в организме человека накапливаются промежуточные продукты, обладающие порой даже более высокой токсичностью, чем исходные вещества. Так, например, хлороформ в результате биотрансформации превращается в сильнейший яд фосген; не обладающий непосредственной генотоксической активностью бензпирен в результате работы ферментов I фазы детоксикации ксенобиотиков превращается в канцероген дигидроксиэпоксид.

К ферментам, работающим на I этапе, относятся семейства цитохромов P-450, эпоксидгидролазы, алкогольдегидрогеназы, эстеразы и многие другие. Для ряда из этих ферментов было показано наличие генетического полиморфизма и связанной с ним чувствительности или устойчивости к воздействию генотоксических химических соединений. (Natajima, 2002; Ingelman-Sunberg, 2001; Pavanell and Clonfero, 2000).

Продукты метаболизма ксенобиотиков дезактивируются в ходе фазы II детоксикации. В результате реакций, осуществляемых на этой стадии, промежуточные соединения связываются с эндогенными конъюгирующими агентами, например, с глутатионом, что приводит к изменению их физико-химических свойств и ограничивает дальнейшее превращение продуктов метаболизма в организме. К ферментам, работающим на этой стадии, относятся глюкуронилтрансферазы, сульфотрансферазы, ацетилтрансферазы, глутатионтрансферазы. Глутатион-S-трансферазы относятся к числу основных ферментов, участвующих в детоксикации широкого спектра соединений с известными промутагенными и мутагенными свойствами. В популяции человека наблюдается функциональный полиморфизм ряда генов глутатион-S-трансфераз, и в первую очередь, генов GSTM1 и GSTT1, обусловленный наличием протяженных делеций в этих генах. Гомозиготы по делеции в гене GSTM1 и по делеции в гене GSTT1 характеризуются отсутствием ферментативной активности. Учитывая роль данных ферментов в детоксикации химических соединений и защите клеток от оксидативного стресса, отсутствие глутатион-S-трансфераз в случае делеционного полиморфизма может повлиять на метаболизм мутагенов в организме, что в свою очередь, может привести к индукции повреждений ДНК и увеличению частоты мутаций. Так, в работе (Karahalil et al., 2002) была проведена оценка связи частоты хромосомных aberrаций в крови

людей с GSTM1 генотипом. Базальный уровень хромосомных aberrаций не зависел от того, являлся ли человек носителем GSTM1 позитивного или GSTM1 нулевого варианта ( $p > 0,05$ ), но был сравнительно выше у курящих, чем у некурящих. После облучения крови в дозе 1 Gy X-лучей уровень хромосомных aberrаций был значимо выше у лиц GSTM1 нулевым вариантом, по сравнению с GSTM1 позитивным ( $p < 0,005$ ), и у курящих по сравнению с некурящими. Этот эффект объясняется за счет влияния GSTM1 генотипа и статуса курения на способность ДНК к репарации. Генетически детерминированная активность глутатионтрансфераз влияет на развитие различных форм рака. Определенное сочетание мутаций увеличивает риск рака груди у женщин в 3–10 раз, а у курильщиц – в 40 раз. Исследования в области изучения генов, влияющих на восприимчивость организма к мутагенным воздействиям и, активно продолжаются (Григорьева, 2007; Tuimala et al., 2002; Angelini et al., 2008; Iarmarcova et al., 2007; Maffei et al., 2008).

Вопрос о генетических аспектах мутагенных воздействий на организм профессиональных спасателей (пожарных) был поднят еще в 1993 г. (Jacobson-Kram et al., 1993). Затем были получены убедительные доказательства воздействия мутагенных факторов их организм (Moen, Ovrego, 1997). Следующим шагом стало изучение индивидуальной чувствительности, опосредованной генотипом спасателей (пожарных). В обзоре R.J. Sram (Sram, 1998) представлены результаты изучения влияния генотипа (генетический полиморфизм гена GSTT1) на уровень соматических мутаций. В другой работе (Hong et al., 2000) спектр анализируемых полиморфизмов был значительно расширен (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 и GSTT1) и авторы также пришли к заключению о том, что генетический полиморфизм может быть важным фактором предрасположенности к развитию заболеваний у пожарных, контактирующих с различными химическими веществами. Исследование J.L. Burgess и соавторов (Burgess et al., 2004) было посвящено оценке влияния генетического полиморфизма гена интерлейкина-10 (IL-10) на ослабление дыхательной функции, наблюдавшееся у пожарных. На большом фактическом материале (генетическое тестирование выполнено почти у 400 пожарных) показано, что дыхательная функция значительно быстрее ослабевает у лиц с полиморфизм 1668 SNP. Определенная связь между генотипом (ген Glutathione-S-transferase) и заболеванием астмой выявлена у пожарных, занимавшихся расчисткой Всемирного торгового центра после событий 11 сентября 2001 г. в Нью-Йорке (Malo et al., 2004). Работами отечественных исследователей (Черняк и др., 2002), изучавших последствия воздействия диоксина на организм пожарных, было показано, что эффекты, обусловленные диоксинами, определяются не только дозой

токсиканта, но и активностью ферментов, вовлеченных в его детоксикацию. Лица с высокой активностью цитохрома P450 (CYP1A2) должны быть отнесены к группе риска развития токсического эффекта диоксина.

Таким образом, представленные данные убедительно свидетельствуют о важности исследований в области изучения вклада генетических факторов в состояние здоровья ликвидаторов последствий ЧС.

## ГЛАВА 4. МУТАГЕННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ И ПОТОМСТВО

Известно, что воздействие мутагенов на половые клетки родителей может индуцировать мутации у потомства. Поэтому пострадавших в чрезвычайных ситуациях, спасателей, их близких не может не волновать вопрос о состоянии генетического здоровья потомства лиц, подвергшихся действию неблагоприятных факторов чрезвычайных ситуаций.

Если в ЧС, сопровождающейся выбросом высоких концентраций химических мутагенов или ионизирующих излучений, оказалась беременная женщина, мутагенные вещества и воздействия могут индуцировать развитие пороков развития (тератогенный эффект) или вызвать онкологические заболевания как у матери, так и у ребенка. Если же действию мутагенов подверглись половые клетки потенциальных родителей, встает вопрос о том, в какой мере это воздействие может быть причиной генетической патологии потомства.

Генетическая патология человека, в зависимости от уровня организации генетического материала, ответственного за ее возникновение, может быть подразделена на хромосомную и генную. К хромосомным заболеваниям относят синдромы, обусловленные численными и/или структурными нарушениями хромосом, возникшими в момент оплодотворения или на начальных этапах дробления эмбриона. Нарушения развития при хромосомной патологии жестко детерминированы и лишь в очень незначительной степени поддаются коррекционным мероприятиям. В настоящее время известно более 800 хромосомных болезней. В большинстве своем они характеризуются множественными пороками развития и приводят к ранней гибели. Однако, некоторые виды хромосомной патологии совместимы с развитием. В табл. 4.1 приведены частоты наиболее распространенных хромосомных синдромов, которые встречаются во взрослой популяции.

**Таблица 4.1**

Частоты некоторых хромосомных синдромов

Синдромы	Кариотип	Частота в популяции
Синдром Дауна	Трисомия 21	1 : 700
Синдром Клайнфельтера	47,XXY	1 : 750
Синдром дисомии Y	47,XYX	1 : 1000
Синдром Шерешевского-Тернера	45,X	1 : 2000

В основе генных болезней лежат мутации генов. В том случае, когда болезнь возникает в результате мутации одного гена, говорят о моногенном заболевании. Мутация может быть доминантной или рецессивной, локализоваться в аутосомах или в половых хромосомах. Всего известно несколько тысяч моногенных болезней. Они поражают различные системы организма. В настоящее время известны уже тысячи моногенных заболеваний. В табл. 4.2. приведены частоты лишь нескольких из них.

**Таблица 4.2**

Частоты некоторых моногенных болезней

Болезнь	Частота	Тип наследования
Ахондроплазия	1 : 100 000	А—Д
Болезнь Вильсона-Коновалова	2 : 100 000	А—Р
Гемофилия А	1 : 2500 (мальчики)	Р—Х-сцепленный
Миопатия Дюшенна-Беккера	1 : 3000—1 : 5000 (мальчики)	Р—Х-сцепленный
Миотоническая дистрофия	1 : 8000—1 : 10 000	А—Д
Муковисцидоз	1 : 1800—1 : 100 000	А—Р
Нейрофиброматоз	1 : 3500	А—Д

Примечание: А—аутосомный, Д—доминантный, Р—рецессивный

Список болезней, хромосомная и/или генная природа которых установлена, весьма широк и постоянно пополняется (главным образом, за счет генных болезней). Однако, частота генетически детерминированных заболеваний не ограничивается хромосомными и моногенными болезнями. Абсолютное большинство заболеваний имеет полигенную (мультифакториальную) природу. К мультифакториальным заболеваниям относятся распространенные хронические заболевания человека – ишемическая болезнь сердца, бронхиальная астма, сахарный диабет и др.

Генетические заболевания могут быть как унаследованными от родителей, так и возникшими *de novo* в результате мутаций. Индукция мутационных изменений у потомства после воздействия мутагенами на половые клетки родителей показана в многочисленных исследованиях на животных, растениях и микроорганизмах. Исходя из положений теории мутагенеза и результатов экспериментальных исследований, можно было бы ожидать и рост уровня генетической патологии в потомстве лиц, подвергшихся действию мутагенов. Однако, на практике вопрос о генетических эффектах мутагенов применительно к потомству человека далек от окончательного решения.

Оценка генетических эффектов у человека возможна лишь при условии хорошо налаженной системы наблюдения за потомством лиц, подвергшихся действию мутагенов. Принцип исследования заключается в сравнении выборок, подвергшихся действию изучаемого потенциального мутагена, с контрольными по ряду параметров, вклад генетической компоненты в которые считается достаточно высоким. ВОЗ совместно с ООН разработано Руководство по изучению генетических эффектов в популяциях человека (1989). Среди показателей, которые рекомендуется учитывать с целью регистрации генетических эффектов в популяции человека - частота хромосомных и генных мутаций новорожденных, частота врожденных пороков развития, частота спонтанных аборт, их хромосомный комплекс, частота инапаратных беременностей.

В работе N. Kamada (Kamada, 2004) проанализированы результаты исследований в области генетической патологии у потомства выживших после атомной бомбардировки в Хиросиме и Нагасаки. Учитывались такие категории событий, как частота беременностей, закончившихся рождением детей с явными аномалиями, мертворожденных или умерших в течение первого месяца жизни; выживаемость детей; соотношение полов; и совокупные навыки детей, чьи родители находились в районе взрыва и др. Никаких статистически значимых эффектов преконцепционного облучения выявлено не было. Исследования, проведенные S. Fujiwara (Fujiwara, 2008), не выявили роста частоты полигенных заболеваний у потомков лиц, переживших атомную бомбардировку в Японии.

Еще одной крупномасштабной радиационной аварией явилась авария на ЧАЭС. Сразу же после Чернобыльских событий 1986 г. в средствах массовой информации появились прогнозы относительно угрожающих генетических эффектов этой крупнейшей в мире радиационной аварии. Однако, в соответствии с расчетами, выполненными на основании рекомендаций ООН, при тех дозовых нагрузках на гонады, которым подверглись пострадавшие в результате аварии на ЧАЭС, частота генетических дефектов у потомства облученных родителей может превысить общепопуляционную не более, чем на 0,75 %, то есть вместо 150 новорожденных с патологией на 1000 новорожденных будет 151. Уловить такие изменения можно лишь проанализировав очень большое число новорожденных. Полученные к настоящему времени сведения о жителях России, Украины, Венгрии, ряда стран Западной Европы не показали роста частоты наследственных дефектов у новорожденных. Широкомасштабное и уникальное по своей глубине исследование генетических последствий аварии на ЧАЭС было проведено в Белоруссии (Лазюк и др., 2002). Результаты анализа базы данных рождения детей с синдромом Дауна за 19 лет (с 1981 по 1999 г.), не позволили прийти к однозначным выводам относительно влияния факторов аварии на

наследственность человека. Генетический мониторинг, осуществленный в некоторых областях России и на Украине, также не дал ответа на этот вопрос.

Применительно к потомству ликвидаторов аварии на ЧАЭС теоретические расчеты показывают, что при тех нагрузках на гонады, которые получили ликвидаторы, подъем частоты генетических заболеваний на популяционном уровне трудноуловим (Бочков, 1994). Для получения достоверной информации необходимо обследование больших по объему выборок. Если считать, что в ликвидационных работах было занято 250 000 человек, ожидаемое число супружеских пар, которые могли сообщить необходимые для оценки генетических эффектов сведения, составляет 50 000. Тщательное обследование такой выборки дало бы некоторую информацию об уровне репродуктивных потерь и о генетических дефектах детей, зачатых после участия одного или обоих родителей в ликвидационных работах. К сожалению, из-за происшедших в бывшем СССР социальных и экономических изменений, эти сведения получить и систематизировать невозможно. Осложняет поиски возможных генетических эффектов и отсутствие хорошо налаженной системы медицинского наблюдения за всеми слоями населения в нашей стране. Это обстоятельство в значительной степени затрудняет выявление вклада радиационного и иных факторов в возникновение патологии потомства, ибо проведение сравнительного анализа невозможно без формирования адекватной группы сравнения (сходной по половозрастному составу, месту жительства, роду занятий и т.п. не облученной группы сравнения тех или иных показателей у облученных лиц). Если за облученными лицами (в большей или меньшей степени) ведется специальное наблюдение, то подобрать группу сравнения с аналогичными условиями медицинского наблюдения удастся далеко не во всех исследованиях. Применение же усредненных стандартов «нормы», при такого рода исследованиях представляется не вполне адекватным.

В 2001 г. Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН/UNSCEAR) опубликовал обзор, посвященный наследственным эффектам радиации. Основной вывод обзора: «в настоящее время отсутствуют однозначные подтверждения того, что радиоактивное излучение Чернобыля является причиной наследственной патологии (Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН / UNSCEAR): 2001). Тем не менее, так как мутагенные и генетические эффекты радиации продемонстрированы на растениях и животных, нельзя исключить наличие таких эффектов и применительно к человеку».

Другая точка зрения заключается в том, малые дозы излучения, действию которых подверглось абсолютное большинство пострадавших от Чернобыльской аварии, обладают спецификой воздействия на организм, и

генетические эффекты малых доз могут не укладываться в привычные схемы регистрации генетической патологии. Эта точка зрения также опирается на результаты экспериментальных исследований. Одно из направлений, в котором ряду авторов удалось зафиксировать рост частоты мутационных событий после радиационного воздействия - это изучение мутаций в минисателлитных локусах. Однако, и эти данные носят противоречивый характер. Так, при оценке частот тандемных повторов минисателлитных локусов ДНК в некоторых исследованиях удалось показать наличие связи между частотой мутаций и низкими дозами Чернобыльского облучения, в то время как в других работах результаты были сомнительными или негативными. Так, Y.E. Dubrova и сотрудники (Dubrova et al., 2002) изучали мутации в половых клетках по 8 минисателлитным локусам, расположенным в хромосоме 20q13: СЕВ1, СЕВ15, СЕВ25, СЕВ36, MSI, MS31, MS32 (D2S90, D1S172, D10S180, D10S473, D1S7, D7S21, и D1S8) и В6.7. Эти локусы были выбраны из-за их высокого уровня спонтанного мутирования в семьях, проживающих в сельских областях Киевского и Житомирского районов Украины, сильно загрязненных Чернобыльскими радионуклидами. Контрольная и экспонированная группы включали семьи с детьми, рожденными и до и после Чернобыльской аварии. Группы были выровнены по этническому признаку, возрасту матерей, по роду занятий, привычкам и отличались только слегка по возрасту отцов. Статистически значимое 1,6 кратное увеличение уровня мутаций было обнаружено в половых клетках облученных отцов, тогда как уровень мутаций в женских половых клетках не возростал. Увеличение уровня минисателлитных мутаций авторы объясняют пост-Чернобыльским радиационным воздействием. К аналогичному заключению о влиянии облучения при ЧС аварии на потомство ликвидаторов пришли и в работе (Weinberg et al., 2001). Однако, результаты другого международного исследования, включавшего анализ 7 гипервариабельных минисателлитных локусов, СЕВ1 (D2S90), СЕВ15 (D1S172), СЕВ72 (D1S888), СЕВ42 (D8S358), СЕВ36 (D10S473), СЕВ25 (DIGS 180) и В6.7, выявили только тенденцию к увеличению частоты мутаций, не достигающую уровня статистической значимости. Авторы делают заключение о том, что мутагенные последствия облучения имеют место лишь при воздействии радиации на мейотическую стадию сперматогенеза (Livshits et al., 2001). Полностью отрицательный результат получен в работе (Slebos et al., 2004). Здесь уровень мутаций был определен в 88 семьях Чернобыльских ликвидаторов с помощью ДНК-блоттинга с мультисателлитными зондами 33,6 и 33,15 и методом ПЦР с панелью 6 тетрануклеотидных повторов. Результаты работы показали, что дети, зачатые как до, так и после аварии, не отличаются по частоте мутаций. Не было показано никакой связи частоты нарушений с дозой облучения.

Наличие новых аллелей обнаружено в потомстве лиц, облученных в результате ЧС в Бразилии в 1997 г. Тогда облучению от выброшенного радиоактивного источника подверглось 10 семей. Частота мутаций (при изучении 12 микросателлитных локусов) была значимо выше в потомстве облученных родителей, чем в группе сравнения (da Cruz et al., 2008). Мутационные изменения выявлены и при изучении локусов Y хромосомы (район AZF) у этой группы обследованных, однако, данные изменения не оказали патологического влияния на фертильность мужчин (Nomura, 2008). На основании анализа мутаций в локусе AZF у лиц, проживающих в районе с повышенным фоном ионизирующего излучения (Premi et al., 2009) было сделано предположение о существовании протективного механизма, защищающего половые клетки от воздействия мутагенов. Полученные к настоящему времени данные не позволяют говорить ни о дозовой зависимости, ни о роли микросателлитных мутаций в состоянии здоровья нынешнего и будущих поколений.

Не показан рост частоты онкологической и генетической патологии у детей, родители которых были облучены высокими дозами в медицинских целях (Rees et al., 2006). Следует подчеркнуть, что речь идет именно о наследственных изменениях, а не о тератогенном эффекте облучения в период беременности. Аналогичная ситуация (мутагенный эффект в модельных экспериментах и отсутствие стандартно регистрируемых мутационных изменений в потомстве человека) имеет место и при изучении действия химических мутагенов. Так, не зарегистрировано каких-либо наследственных изменений в потомстве лиц, пострадавших от воздействия диоксинов при аварии на химическом предприятии в 1976 г. в Севесо, Италия (Vinceti et al., 2009). Не обнаружено роста частоты мутационных событий и при изучении потомства лиц, контактировавших с другими химическими мутагенами (Infante-Rivard et al., 2005).

Таким образом, мнения специалистов, занимающихся изучением генетических эффектов действия мутагенных факторов окружающей среды на потомство человека разделились: большинство исследователей (обзор Draper, 2008) полагает недоказанными мутационные изменения в популяции, тогда как другие убеждены в том, что такие последствия существуют и могут проявиться даже через несколько поколений после воздействия (Голубовский, Вайсман, 2006).

## ГЛАВА 5.

### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ЛИЦ, УЧАСТВОВАВШИХ В АВАРИЙНО-СПАСАТЕЛЬНЫХ РАБОТАХ

Во Всероссийском центре экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России с 1992 г. по настоящее время проводится наблюдение за состоянием генетического аппарата лиц, принимавших участие в работах по ликвидации последствий ЧС. Это ЛПА, профессиональные пожарные и сотрудники поисково-спасательных формирований МЧС России.

Параллельно производили комплектование группы сравнения из лиц сходного половозрастного состава, с аналогичным спектром заболеваний, не имевших в анамнезе контактов с вредными факторами.

Все обследуемые проходили подробное анкетирование путем опроса, включавшего более 60 пунктов, учитывающих образ жизни, заболевания, а также возможные дополнительные мутагенные воздействия на организм. Анкета направлена на получение сведений об образе жизни, заболеваниях, а также дополнительных мутагенных воздействиях на организм. Форма анкеты создана на основании международных стандартов с учетом специфики изучаемого контингента. Анкетирование производили в виде диалога с обследуемыми, разъясняя некоторые пункты анкеты и задавая дополнительные вопросы, способствующие получению наиболее полной информации о дополнительных факторах и воздействиях, существенных для интерпретации результатов обследования. Вся получаемая информация сосредотачивалась в базе данных, специально разработанной для этих целей в математической лаборатории ВЦЭРМ.

В качестве основного метода изучения состояния генетического аппарата использовали цитогенетический анализ, признанный «золотым стандартом» в оценке радиационного воздействия на организм человека. С подробным описанием методик выполнения анализа можно познакомиться в наших публикациях (Алексанин и др., 2007; Слозина и др., 2002). Учитывали все типы хромосомных aberrаций: одиночные фрагменты, хроматидные обмены, парные фрагменты, полицентрические хромосомы, кольца, атипичные хромосомы.

#### 5.1. Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской АЭС

К настоящему времени цитогенетическое обследование во ВЦЭРМ прошли более 500 ЛПА. Анализ полученных данных показал, что в отдаленном периоде после аварии у ЛПА наблюдаются цитогенетические нарушения. Эффект длительного сохранения генетических повреждений в

соматических клетках облученных был изучен нами при обследовании большой выборки ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Ликвидаторы контактировали с радиационным фактором лишь ограниченное время и затем вернулись к своей обычной жизни. Следовательно, анализ этой категории пострадавших позволяет наиболее точно судить об отдаленных эффектах действия факторов аварии на геном. При изучении хромосомного комплекса лимфоцитов периферической крови получены следующие данные относительно состояния генома соматических клеток ликвидаторов в отдаленном периоде (табл. 5.1.1).

**Таблица 5.1.1**

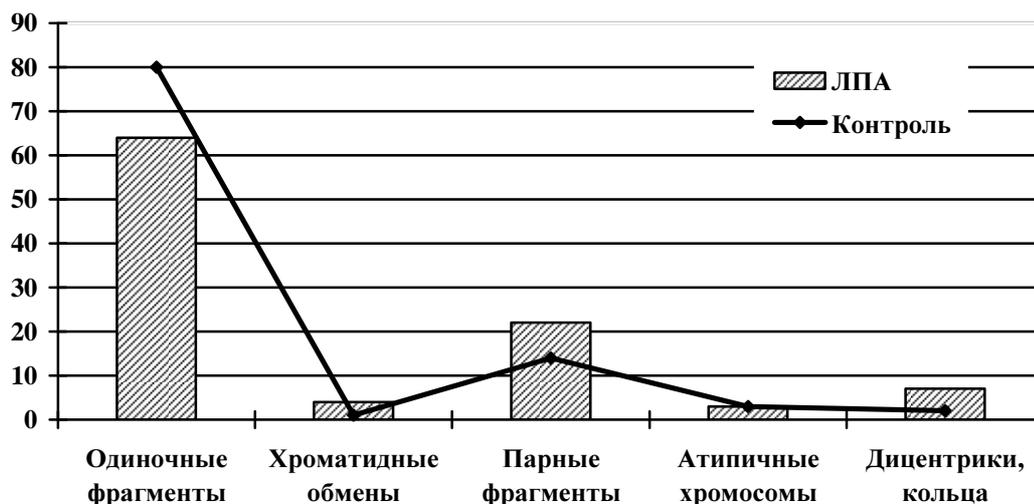
Частота и типы хромосомных aberrаций у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС и в контроле

Типы хромосомных aberrаций	Группа сравнения	ЛПА
Количество обследованных	68	491
Частота хромосомных aberrаций	$1,96 \pm 0,21$	$3,01 \pm 0,12^*$
Частота одиночных фрагментов	$1,59 \pm 0,18$	$1,76 \pm 0,10$
Частота хроматидных обменов	$0,01 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,02^*$
Частота парных фрагментов	$0,29 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,05^*$
Частота дицентриков и колец	$0,04 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,02^*$
Частота атипичных хромосом	$0,05 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,02$

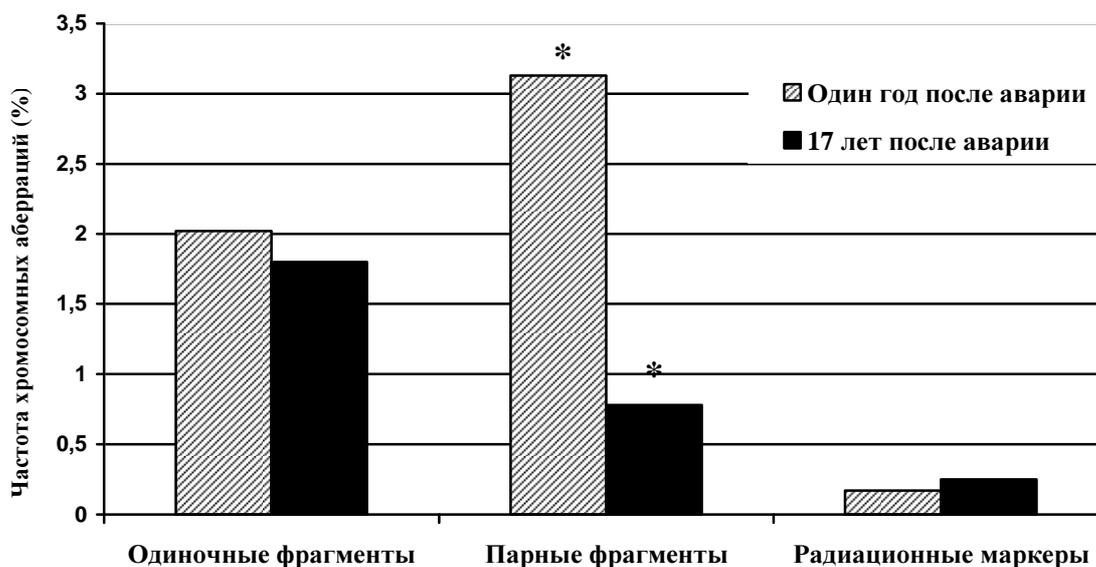
\* - отличия от группы контроля,  $p < 0,001$

У ликвидаторов частота всех типов хромосомных нарушений, за исключением одиночных фрагментов, достоверно превышала показатели контрольной группы. В контрольной группе около 80 % нарушений приходилось на одиночные фрагменты (рис. 5.1.1), что характерно для спонтанных цитогенетических нарушений в популяции.

У ликвидаторов аварии на ЧАЭС спектр нарушений иной: значительно выше доля aberrаций хромосомного типа. Соотношение хроматидных/хромосомных aberrаций у ликвидаторов 1,4 : 1 в отличие от 4 : 1 в контрольной группе. Aberrации обменного типа, характерные для радиационного воздействия, у ликвидаторов составляют 11 % среди всех выявленных нарушений при 2 % в группе сравнения.



**Рис. 5.1.1.** Соотношение различных типов хромосомных аберраций у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и в группе сравнения.  
(по оси ординат указано относительное количество (%) различных типов хромосомных аберраций).



**Рис. 5.1.2.** Цитогенетические показатели ликвидаторов, обследованных 1 год после аварии и в отдаленном периоде после участия в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС.

\* - различия показателей,  $p < 0,01$ .

Сравнительный анализ хромосомных аберраций у ликвидаторов сразу после аварии и в отдаленном периоде показал, что, несмотря на некоторое снижение частоты нарушений, произошедшее, главным образом, за

счет одиночных и парных фрагментов, частота дицентрических и кольцевых хромосом как в первый год после аварии, так и в отдаленном периоде остается повышенной (рис 5.1.2).

Для проверки предположения о связи уровня цитогенетических нарушений с дозой облучения в момент выполнения работ на Чернобыльской АЭС ликвидаторы были подразделены на группы в зависимости от официально зарегистрированной физической дозы облучения: менее 5 сГр, от 5 до 10, от 10 до 20, от 20 до 25, более 25 сГр.

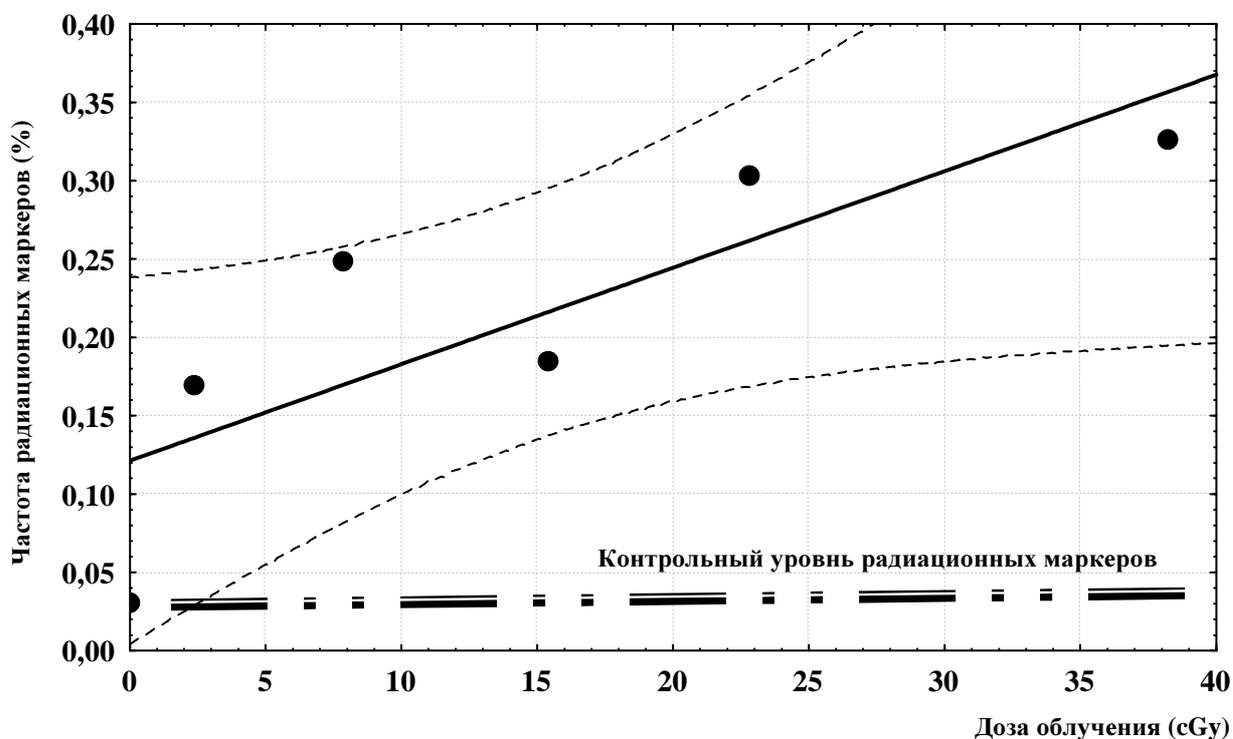
Анализ корреляций показал наличие достоверной положительной связи между дозой облучения и частотой цитогенетических радиационных маркеров ( $r = 0,14$ ;  $p < 0,05$ ). Зависимость частоты радиационных маркеров от дозы облучения (рис. 5.1.3) описывалась уравнением регрессии:

$$Y = 0,113 + 0,008 \cdot D$$

где  $Y$  – частота радиационных маркеров на 100 клеток;

$D$  – доза (сГр).

Данные, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что частота дицентрических и кольцевых хромосом в отдаленном периоде превышает контрольные значения во всем диапазоне зарегистрированных доз ( $p < 0,05 - 0,001$ ).



**Рис. 5.1.3.** Зависимость частоты радиационных маркеров от зарегистрированной дозы облучения.

Таким образом, несмотря на значительный временной интервал между облучением и цитогенетическим анализом, характерная для такого параметра, как хромосомные аберрации, зависимость частоты нарушений от дозы облучения сохраняется.

Вопрос о связи частоты нестабильных хромосомных аберраций с возрастом ликвидаторов ранее не анализировался. Согласно существующим представлениям, частота нестабильных хромосомных аберраций в интактной популяции не зависит от возраста обследуемых. Если же популяция подвергается действию мутагенов, то наблюдается рост частоты хромосомных фрагментов с увеличением возраста (Ликвидаторы..., 2008). При анализе базы данных ВЦЭРМ показана значимая корреляция ( $r = 0,11$ ;  $p < 0,05$ ) частоты парных фрагментов у ликвидаторов не с возрастом на момент обследования, но с возрастом на момент участия в ликвидации аварии – чем старше были ликвидаторы на момент пребывания на станции, тем выше частота парных фрагментов в отдаленном периоде. Можно предположить, что выявленная закономерность является результатом возраст-зависимых нарушений процессов репарации и/или элиминации хромосомно-абerrантных клеток.

Для изучения влияния образа жизни ликвидаторов на цитогенетические показатели использованы сведения, полученные при анкетировании. Из всех многочисленных параметров, отраженных в анкетах, факторный анализ установил, помимо связи парных фрагментов с возрастом, связь между курением и частотой хроматидных обменов ( $p < 0,001$ ). Хроматидные обмены характерны для химического мутагенеза. Изолированный фактор курения не вызывает увеличения частоты цитогенетических нарушений у человека. Однако, если на популяцию действуют какие-либо дополнительные мутагенные факторы, рост частоты цитогенетических нарушений у курильщиков может превышать аналогичные показатели у некурящих людей. Наличие хроматидных обменов у курящих ликвидаторов позволяет предположить повышение чувствительности облученных людей к действию мутагенов окружающей среды.

В когорте ликвидаторов ежегодно регистрируется прирост первичной заболеваемости (Ликвидаторы..., 2008). Первое ранговое место принадлежит болезням системы кровообращения; на втором ранговом месте болезни костно-мышечной системы, на третьем – болезни органов пищеварения, на четвертом – нервной системы. Пятое ранговое место занимает класс психических расстройств. В настоящее время в среднем на каждого ликвидатора приходится 10 диагнозов заболеваний.

Нами проведен анализ связи мутационных событий в лимфоцитах периферической крови с заболеваемостью ликвидаторов. Сведения о со-

стоянии здоровья ликвидаторов, прошедших цитогенетическое обследование, получены из Северо-Западного регионального центра Российского государственного медико-дозиметрического регистра. В исследование было включено 212 человек и проанализировано 3314 диагнозов. Классификация заболеваний проведена в соответствии с МКБ-10. Анализ онкозаболеваемости и цитогенетических показателей проводился так же по базе данных лаборатории биодозиметрии и клинической цитогенетики ВЦЭРМ МЧС России. В исследование был включен 491 пациент.

В результате анализа полученных данных удалось установить, что цитогенетические показатели – частота и типы хромосомных aberrаций не связаны с заболеваниями органов пищеварения, органов дыхания, заболеваниями мочеполовой системы и эндокринными заболеваниями, психическими расстройствами и нервными болезнями, заболеваниями костно-мышечной системы и органов чувств, а так же наличием новообразований. Однако для некоторых болезней – болезней крови, гипертонической болезни и онкологических заболеваний – зависимость от цитогенетических показателей была установлена.

*Онкологические заболевания.* В зависимости от наличия или отсутствия онкологических заболеваний были сформированы две группы ликвидаторов. У пациентов первой группы помимо соматической патологии были диагностированы онкологические заболевания различной локализации: надпочечников, головного мозга, щитовидной железы, восходящей ободочной кишки, треугольника мочевого пузыря, головки поджелудочной железы, предстательной железы, печени. Вторую группу составили больные с различными соматическими заболеваниями. В каждой группе ликвидаторов было изучено состояние хромосомного комплекса лимфоцитов. Результаты цитогенетического анализа представлены в табл. 5.1.2.

В результате анализа полученных данных было установлено, что обе группы ликвидаторов практически по всем цитогенетическим показателям достоверно превышают показатели контрольной группы, при этом частота хромосомных нарушений у пациентов с онкопатологией превышает не только контрольный уровень, но и показатели ликвидаторов, не имеющих онкологических заболеваний. Результаты исследования, представленные в таблице, убедительно свидетельствуют о том, что ликвидаторы, у которых были выявлены онкологические заболевания, имели значимо более высокий уровень хромосомных aberrаций в целом, а также характеризовались повышенной частотой парных фрагментов. При изучении связи заболеваний ликвидаторов и цитогенетических показателей была установлена связь радиационных маркеров и онкологических заболеваний ( $p < 0,05$ ).

Таблица 5.1.2

Частота и типы хромосомных aberrаций у ликвидаторов  
с онкологическими заболеваниями

Группа	Контроль n=68	ЛПА	
		С соматическими заболеваниями n = 477	С онкопатологией n = 14
Общая частота ХА (%)	1,96 ± 0,21	2,97 ± 0,13 <sup>^^</sup>	4,16 ± 0,58 <sup>^^^*</sup>
Одиночные фрагменты	1,59 ± 0,18	1,73 ± 0,10	2,45 ± 0,54
Хроматидные обмены	0,01 ± 0,01	0,13 ± 0,01 <sup>^^^</sup>	0,07 ± 0,04 <sup>^^</sup>
Парные фрагменты	0,29 ± 0,05	0,76 ± 0,05 <sup>^^^</sup>	1,32 ± 0,30 <sup>^^^*</sup>
Атипичные хромосомы	0,05 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,05 ± 0,05
Дицентрики, кольца	0,04 ± 0,02	0,25 ± 0,02 <sup>^^^</sup>	0,27 ± 0,09 <sup>^^^</sup>

\* - различия между группами ликвидаторов,  $p < 0,05$ ;

<sup>^^</sup> <sup>^^^</sup> - отличия от контроля,  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$

На рис. 5.1.4. представлено распределение ликвидаторов с дицентрическими и кольцевыми хромосомами в зависимости от наличия онкологических заболеваний, свидетельствующее о достоверном увеличении количества лиц с радиационными маркерами в группе пациентов с онкопатологией.

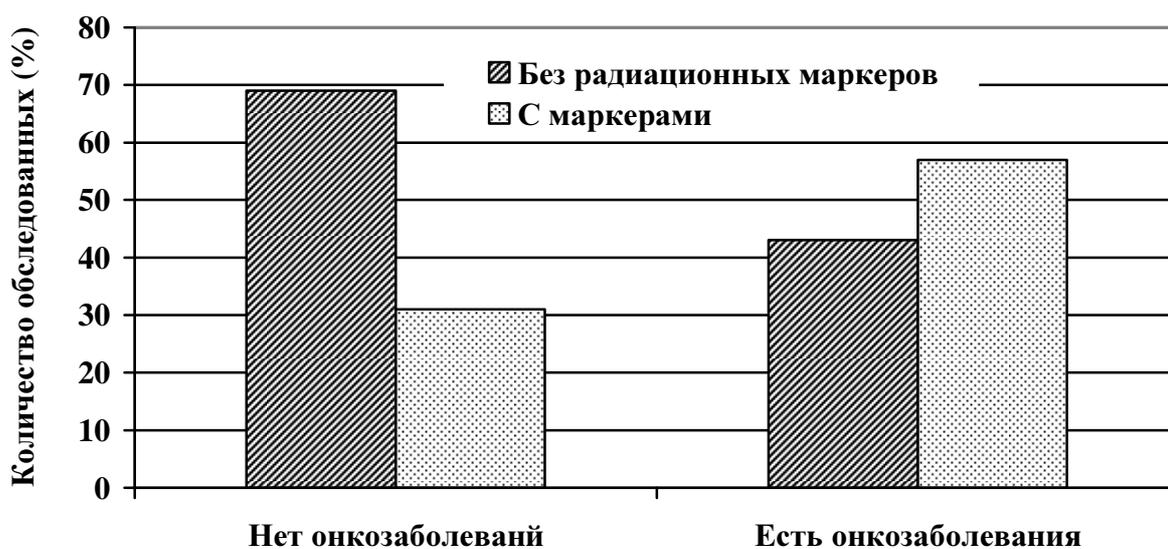


Рис. 5.1.4. Распределение ликвидаторов с радиационными маркерами в зависимости от наличия онкологических заболеваний ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в результате анализа состояния здоровья и показателей мутационного процесса у ликвидаторов была выявлена связь онкологических заболеваний с повышенной, по сравнению с нормой, частотой хромосомных aberrаций. Для каждого из показателей мутагенеза установлены свои закономерности связи с заболеваемостью, что вероятно связано с одной стороны с особенностями генетических и биохимических процессов, протекающих в организме больного, а с другой стороны – с факторами, приведшими к индукции хромосомных мутаций. Так, хорошо известно, что частота индуцированных радиацией дицентрических и кольцевых хромосом в ближайший период времени после облучения зависит от дозы облучения (Biological dosimetry, 1986). Эта зависимость, несмотря на длительный период времени между обследованием и облучением, была выявлена и при обследовании нашей выборки ликвидаторов. Онкозаболевания так же являются одним из последствий облучения. Поэтому не случайно, что в результате анализа полученных нами данных была установлена закономерность – среди ликвидаторов с онкозаболеваниями преобладали пациенты имеющие дицентрики – цитогенетические маркеры радиационного воздействия.

Основной вклад в увеличение частоты общей aberrаций у ЛПА происходит за счет одиночных и парных фрагментов, причиной появления которых могут быть различные мутагенные факторы внешней среды, с которыми ликвидаторы контактируют в своей повседневной жизни в быту или на производстве. Однако увеличение этого показателя именно у ЛПА с онкопатологией позволяет предположить, что рост частоты мутаций связан особенностями состояния здоровья этой категории пациентов по сравнению не только с контролем, но и остальными ЛПА. В соответствии с современными представлениями может быть несколько механизмов этого явления. Один из них – повышенная чувствительность пациентов к действию мутагенов окружающей среды, связанная с врожденной, генетической предрасположенностью пострадавших как к развитию рака, так и к действию мутагенов/карциногенов окружающей среды. Другими механизмами могут быть индуцированные облучением нестабильность генома, а также наличие окислительного стресса, которые в соответствии с современными представлениями принимают участие в процессах индуцированного мутагенеза, в инициации, промоции и прогрессии карциногенеза.

*Болезни крови.* По результатам цитогенетического обследования общая частота хромосомных aberrаций у пациентов с болезнями системы крови составила  $4,21 \pm 0,74$  %, тогда как у лиц без заболеваний крови этот показатель был в 1,5 раза меньше и составил  $2,97 \pm 0,12$  % ( $p < 0,05$ ). Частота остальных типов нарушений хромосом у ЛПА с болезнями крови не-

сколько превышала показатели остальных ЛПА, однако различия не достигали уровня достоверных (табл. 5.1.3).

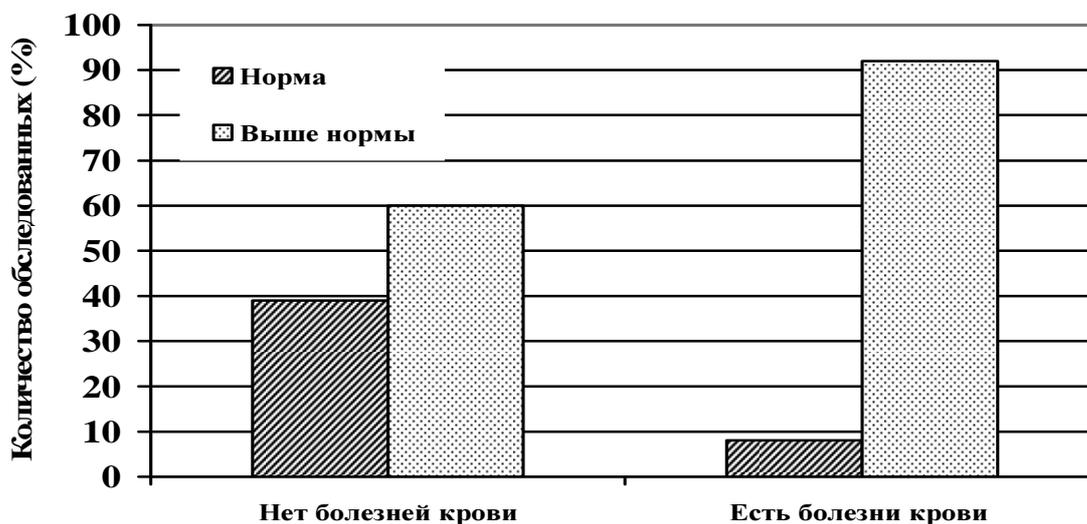
**Таблица 5.1.3**

Цитогенетические показатели лимфоцитов периферической крови у ЛПА в зависимости от наличия заболеваний крови

Группа ликвидаторов	Частота различных типов хромосомных aberrаций				
	Все хромосомные aberrации	Одиночные фрагменты	Обмены	Парные фрагменты	Дицентрики, кольца
Без заболеваний крови (n = 205)	2,79 ± 0,12*	1,64 ± 0,13	0,17 ± 0,03	0,75 ± 0,07	0,23 ± 0,045
С заболеваниями крови (n = 7)	4,08 ± 0,75*	1,99 ± 0,54	0,17 ± 0,15	1,58 ± 0,65	0,34 ± 0,14

\* - различия между группами,  $p < 0,05$

Дальнейший анализ показал, что увеличение количества aberrаций в группе больных ЛПА происходит за счет увеличения количества пациентов с показателями, превышающими контрольный уровень. В связи с этим, были установлены различия в распределении ЛПА по частоте хромосомных aberrаций в зависимости от наличия и отсутствия заболеваний крови (рис. 5.1.5).



**Рис. 5.1.5.** Распределение ликвидаторов по частоте хромосомных aberrаций в зависимости от наличия заболеваний крови (различие распределений на уровне  $p < 0,05$ ).

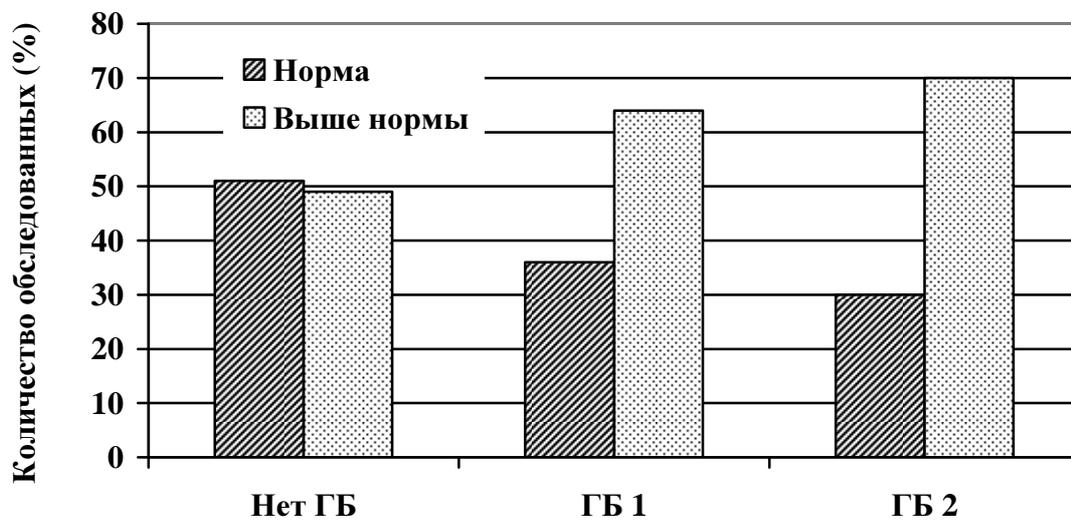
У 40 % обследованных нами ликвидаторов без болезней крови частота хромосомных aberrаций не превышала показатели нормы, тогда как в

группе ликвидаторов с заболеваниями системы крови такие пациенты были выявлены значительно реже – в 8 % случаев. Абсолютное большинство составили пациенты с повышенными показателями частоты аберраций. Полученные результаты позволили сделать вывод о связи повышенной частоты аберраций и развитием заболеваний крови.

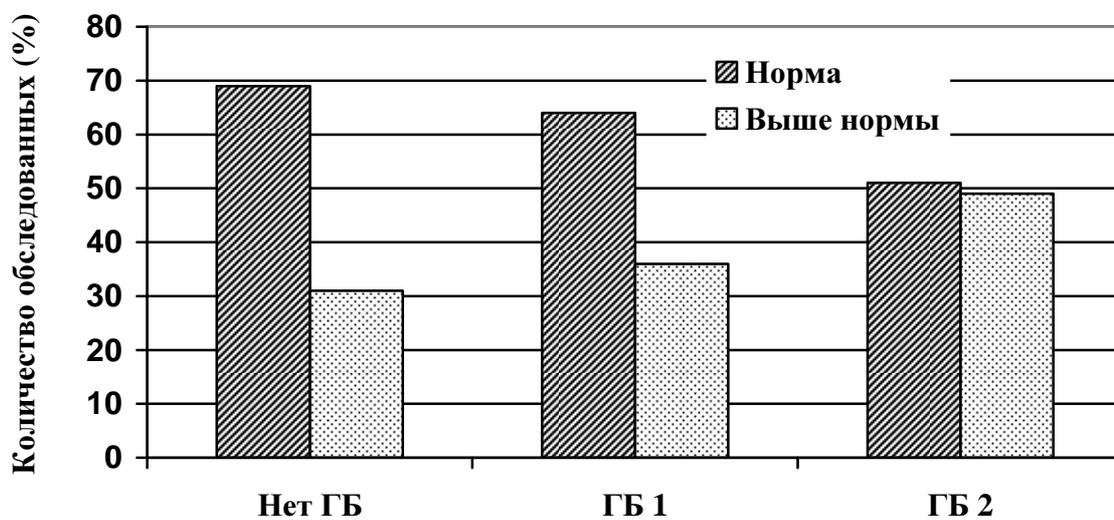
*Гипертоническая болезнь.* В отдаленном периоде после Чернобыльской аварии у ЛПА отмечен переход преимущественно функциональных нарушений в хронические заболевания сердечно-сосудистой системы – формирование ишемической болезни сердца и гипертонической болезни. Это происходит на фоне существенных изменений психологического статуса, нарушений свободно-радикальных процессов и иммунного статуса ЛПА, способствующих формированию молекулярной основы для развития кардиальной патологии. Одним из наиболее часто встречающихся заболеваний у ЛПА является гипертоническая болезнь. По данным медицинского регистра это заболевание выявлено у 80 % ЛПА. В группе обследованных нами ликвидаторов этот диагноз был поставлен у 68 % пациентов.

Анализ результатов цитогенетического исследования позволил выявить связь гипертонической болезни и мутационных изменений соматических клеток ликвидаторов. В группе ликвидаторов без гипертонической болезни лица с частотой хромосомных аберраций, соответствующей показателям нормы и превышающей контрольные показатели встречались с равной частотой. Однако, по мере нарастания степени гипертонической болезни – 1-й и 2-й степени – происходит увеличение количества аберраций хромосом ( $r = 0,20$ ,  $p < 0,01$ ). Пациенты с частотой хромосомных аберраций, превышающих показатели нормы, встречаются в этих группах достоверно чаще (64 % и 70 %, соответственно), чем в группе ЛПА без гипертонии (49 %,  $p < 0,05$ ). В графическом виде результаты представлены на рис. 5.1.6. Подобный эффект зависимости степени гипертонической болезни и от количества цитогенетических нарушений наблюдается не только для общей частоты хромосомных аберраций, но и для других типов аберраций хромосом. Так, возрастание степени гипертонической болезни сопровождается увеличением количества одиночных фрагментов ( $r = 0,17$ ;  $p < 0,05$ , рис. 5.1.7) и появлением хроматидных обменов ( $r = 0,14$ ;  $p < 0,05$ ; рис. 5.1.8).

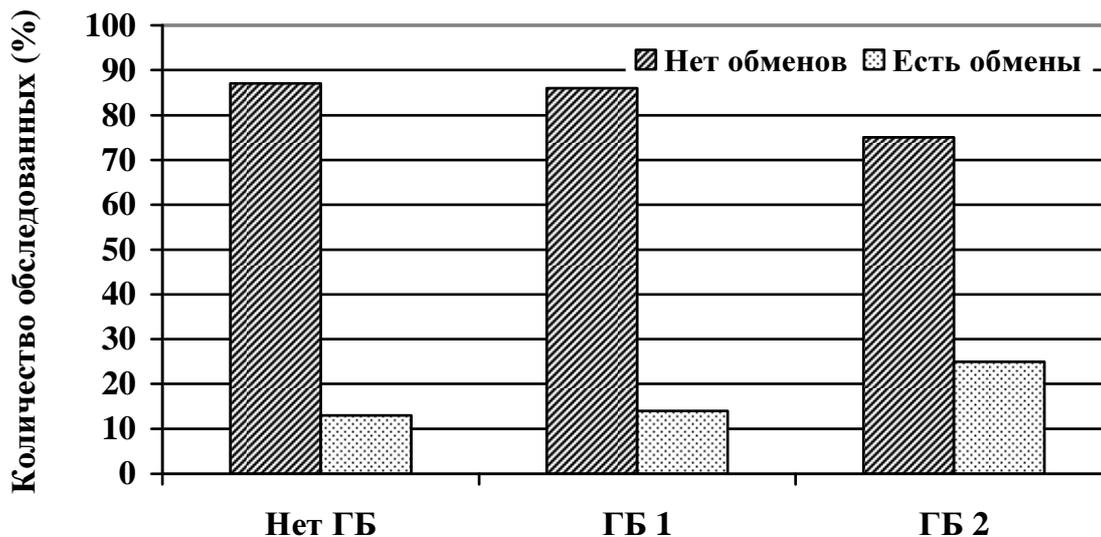
Таким образом, в результате анализа состояния хромосомного аппарата клеток ликвидаторов было установлено, что у ЛПА с гипертонической болезнью частота хромосомных аберраций, частота одиночных фрагментов и хроматидных обменов достоверно чаще превышают показатели нормы. Тяжесть гипертонической болезни связана с состоянием генома - у лиц с частотой аберраций превышающих контрольные значения гипертоническая болезнь 2-й степени развивается значительно чаще.



**Рис. 5.1.6.** Распределение частоты хромосомных aberrаций у ликвидаторов в зависимости от гипертонической болезни ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 5.1.7.** Распределение частоты одиночных фрагментов у ликвидаторов в зависимости от гипертонической болезни ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 5.1.8.** Распределение хроматидных обменов у ликвидаторов в зависимости от гипертонической болезни ( $r = 0,14$ ;  $p < 0,05$ ).

Полученные нами данные, свидетельствующие о повышенном уровне соматических мутаций при сердечно-сосудистой патологии и о риске развития гипертонической болезни вследствие увеличения частоты мутаций, неожиданны. Известно, что в случае онкологических заболеваний хромосомные aberrации являются причиной, маркером и следствием заболевания. Однако, в настоящем исследовании показана связь цитогенетических параметров и соматических заболеваний. На необходимость изучения влияния на состояние здоровья тех цитогенетических нарушений, которые наблюдаются у облученных лиц, говорится в итоговых документах Венской конференции МАГАТЭ, 2005 (Report WHO, 2005). Однако, механизмы, которые могли бы быть ответственны за формирование взаимосвязи соматической патологии и хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови, весьма гипотетичны.

В нашем исследовании сопоставляли цитогенетические параметры и состояние здоровья ЛПА. Абсолютное большинство ликвидаторов подверглось облучению в диапазоне малых доз. Ионизирующее излучение индуцировало подъем уровня хромосомных aberrаций в момент облучения. Согласно существующим представлениям, со временем должна происходить элиминация клеток с хромосомными aberrациями, связанная с их естественной гибелью. Действительно, при сравнении данных, полученных в первый год после аварии, с результатами обследования ликвидаторов в отдаленном периоде прослеживается снижение частоты парных фрагментов, однако частота радиационных маркеров не снижается до спонтанного уровня. Наличие радиационных маркеров в виде дицентрических и коль-

цевых хромосом в отдаленном периоде было зарегистрировано в лимфоцитах периферической крови у жертв атомной бомбардировки в Японии, у рыбаков, облученных при ядерном взрыве на атолле Бикини (Ishichara et al, 1990), при других ядерных инцидентах (Ramalho et al., 1995). Все эти лица пострадали от действия высоких доз радиации. В нашем исследовании впервые, на большой выборке пострадавших, было показано длительное сохранение цитогенетических нарушений у лиц, подвергшихся облучению в диапазоне малых доз. Можно высказать несколько предположений о причинах и механизмах этого явления. Одно из них – существование долгоживущих лимфоцитов, так называемых "лимфоцитов памяти" ("memory cells"), которые несут информацию о предшествовавшем радиационном воздействии. Возможно также, что в кровоток выходят лимфоциты, возникшие из кроветворных стволовых клеток, подвергшихся облучению и длительное время находившихся в состоянии покоя. Хромосомные aberrации в лимфоцитах могли быть индуцированы и в результате инкорпорации радионуклидов. Нельзя исключить и возможности, что одной из причин увеличения частоты мутаций у ЛПА в отдаленном периоде может быть наличие радиационно-индуцированной нестабильности генома.

Были изучены также различные факторы образа жизни, которые могли индуцировать хромосомные aberrации у ЛПА в после аварийном периоде. На основании математической обработки сведений, полученных при анкетировании ликвидаторов и данных медицинского регистра, показано, что две переменные оказали влияние на частоту хромосомных aberrаций у ЛПА – возраст на момент пребывания на ЧАЭС и курение.

Возраст ЛПА на момент участия в ликвидационных работах варьировал в пределах от 18 до 61 года. Показана значимая прямая корреляция ( $r = 0,11$ ;  $p < 0,05$ ) частоты парных фрагментов с возрастом на момент участия в ликвидации аварии.

При этом представляется принципиально важным отсутствие корреляционной зависимости между возрастом в момент обследования и частотой цитогенетических нарушений. Следовательно, повышенная частота парных фрагментов сама по себе не является функцией возраста ЛПА, но зависит от того, на какой возрастной период пришлось экзогенное мутагенное воздействие. Наибольшая частота нарушений наблюдается у тех лиц, которые принимали участие в ликвидации последствий аварии в возрасте 40 лет и старше. Можно предположить различные биологические механизмы роста aberrаций у ЛПА старшего возраста – повышение чувствительности генома клеток к действию радиации и другим факторам окружающей среды, нарушение процессов репарации и элиминации индуцированных нарушений хромосомно-aberrантных клеток и др.

Курение также явилось фактором, оказывающим влияние на хромосомную патологию у ЛПА. При разбиении ликвидаторов на группы в зависимости от отношения к курению – курящие, некурящие, бросившие курить – выявлены значимые различия по общей частоте хромосомных нарушений, обусловленные, главным образом, значительным преобладанием у ЛПА аберраций обменного типа (табл. 5.1.4).

Как следует из данных, представленных в табл. 5.1.4, имеется достоверное превышение общей частоты хромосомных аберраций и частоты хроматидных обменов у курящих ликвидаторов по сравнению с некурящими лицами. Ликвидаторы, бросившие курить до момента цитогенетического обследования (независимо от того, произошло это до или после участия в ликвидации последствий аварии) по частоте цитогенетических нарушений занимают промежуточное положение и статистически значимо не отличаются ни от курящих, ни от некурящих лиц.

На частоту остальных изученных нами типов хромосомных перестроек – дицентрических и кольцевых хромосом, одиночных и парных фрагментов – курение не оказывало существенного влияния.

Ранее какого-либо влияния курения на состояние хромосомного аппарата клеток участников ликвидационных работ показано не было (Lazutka, 1996; Lazutka, Dedonyte, 1995). Выявить эффект курения нам удалось в результате анализа большой выборки, подразделенной, в зависимости от отношения к курению на три группы (курящие, некурящие и ликвидаторы бросившие курить).

**Таблица 5.1.4**

Частота хромосомных аберраций в разных группах ликвидаторов

Тип ХА	Курящие n = 190	Некурящие n = 67	Бросившие курить n = 64
Частота аберраций	3,09 ± 0,19*	2,06 ± 0,18*	2,69 ± 0,30
Одиночные фрагменты	1,70 ± 0,15	1,17 ± 0,14	1,59 ± 0,23
Обмены	0,22 ± 0,04**	0,03 ± 0,01**	0,08 ± 0,03
Парные фрагменты	0,85 ± 0,08	0,64 ± 0,08	0,76 ± 0,13
Дицентрики, кольца	0,31 ± 0,04	0,23 ± 0,05	0,26 ± 0,06

\* – различия между группами,  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .

Причины возникновения хроматидных обменов в связи с курением у ЛПА пока не ясны. Известно, что аберрации этого типа возникают на синтетической и постсинтетической стадиях клеточного цикла; и для образования межхромосомного хроматидного обмена необходимы повреждения, как минимум, в двух хромосомах (в нашем исследовании все выявленные обмены принадлежали к типу межхромосомных хроматида-хроматидных обменов). Этот тип нарушений крайне редко встречается при обследовании контрольных лиц, как курящих, так и некурящих. Его частота составляет  $0,048 \pm 0,008$  на 100 проанализированных клеток (Bender et al., 1988). Однако, при цитогенетическом обследовании ЛПА зарегистрировано повышение встречаемости данного типа нарушений (Lazutka et al., 1995).

Увеличение частоты обменов традиционно связывают с действием факторов окружающей среды или с состоянием здоровья и стилем жизни обследованных. W.Au и соавторами (Au et al., 1992) было высказано предположение о нарушении процессов репарации в клетках курящих лиц. Можно предположить, что если курение само непосредственно не индуцирует хроматидные обмены, то действие этого фактора на лимфоциты, уже имеющие потенциальные повреждения возникшие вследствие воздействия радиации, и приводит к возникновению в таких клетках хроматидных аберраций обменного типа. Однако сведения о сочетанном действии радиационного фактора и факторов окружающей среды на геном клеток человека единичны и проблема эта далека от разрешения, но полученные нами данные свидетельствуют о том, что курение является дополнительным мутагенным фактором, повреждающим хромосомный аппарат клеток лиц, подвергавшихся в прошлом действию ионизирующих излучений.

На основании анализа литературы можно было предположить существование еще одного механизма воздействия на геном ЛПА в отдаленном периоде после облучения – наличие «окислительного стресса». Как в нашем Центре, так и в других учреждениях, производивших биохимические исследования у ЛПА, неоднократно отмечали нарушения биохимических показателей, свидетельствующие о формировании состояния «окислительного стресса», то есть нарушения баланса между интенсивностью протекания реакций свободнорадикального окисления и уровнем антиоксидантной защиты (Зыбина, 2002). На основании известной связи между процессом «окислительного стресса» и повреждениями ДНК (Monteiro et al., 2000; Sugisawa, Umegak, 2002; Umegaki, Fenech, 2002) было высказано предположение о влиянии гиперпродукции свободных радикалов и нарушения деятельности антиоксидантной системы у ЛПА на цитогенетические процессы. Проведенное нами пилотное исследование показало целесообразность поиска взаимосвязей между цитогенетическими нарушениями, уровнем генерации активных форм кислорода и антиоксидантным ста-

тусом ликвидаторов (Слозина и др., 2001). Полученные данные послужили основанием для проведения расширенного исследования, направленного на сопоставление результатов анализа хромосомных aberrаций и некоторых показателей «окислительного стресса» у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленном периоде после облучения.

При проведении сопоставления состояния хромосомного комплекса лимфоцитов периферической крови и биохимических показателей крови у ЛПА на ЧАЭС выявлено наличие связи между некоторыми показателями «окислительного стресса» и цитогенетическими параметрами. В табл. 5.1.5 представлены те пары признаков, между которыми выявлены достоверные корреляции.

При анализе данных, представленных в табл. 5.1.5, обращают на себя внимание следующие взаимосвязи:

- наличие прямой корреляционной зависимости между: частотой радиационных маркеров и количеством перекиси водорода, частотой хроматидных обменов и стимулированным уровнем активных продуктов тиобарбитуровой кистлоты (ТБК-АП);

- наличие обратной корреляционной зависимости между частотой различных типов aberrаций - одиночных фрагментов, хроматидных обменов, дицентриков и колец и уровнем продуктов перекисного окисления липидов;

- наличие обратной корреляционной зависимости между уровнем супероксиддисмутазы (СОД) и общей частотой хромосомных aberrаций и одиночных фрагментов.

С точки зрения анализа причин генетических нарушений большой интерес представляет выявленная прямая зависимость между частотой дицентрических хромосом и концентрацией  $H_2O_2$ . Известно, что при действии ионизирующего излучения в облученных клетках усиливается продукция активных форм кислорода (АФК) как за счет возникновения радиационно-индуцированных радикалов, так и в результате усиления их метаболической генерации. В соответствии с современными представлениями гиперпродукция АФК может сохраняться и в отдаленном периоде после облучения (Бурлакова и др., 2001). Данные относительно возможности прямой индукции дицентрических хромосом под действием перекиси, многочисленны и противоречивы. В 1986 году (Oya et al., 1986) на культуре клеток эмбриональных фибробластов человека было показано, что кратковременное однократное воздействие  $H_2O_2$  индуцировало aberrации хромосомного типа, в том числе дицентрические хромосомы. При этом авторы пришли к заключению, что гидроксильный радикал играет ключевую роль в индукции хромосомных aberrаций при введении  $H_2O_2$ .

Таблица 5.1.5

Результаты анализа корреляций цитогенетических показателей и показателей  
«окислительного стресса» ЛПА

Показатели	Количество обследованных лиц	Коэффициент корреляции гамма
ТБК-АП сп. и частота aberrаций хроматидного типа	81	-0,17*
ТБК-АП сп. и хроматидные обмены	81	-0,33**
ТБК-АП стим. и хроматидные обмены	80	0,34**
ТБК-АП мон. и дицентрики, кольца	42	-0,32*
ТБК-АП н. и частота aberrаций хроматидного типа	31	-0,35**
ТБК-АП н. и одиночные фрагменты	31	-0,34**
СОД эритроцитов и общая частота aberrаций	77	-0,21**
СОД эритроцитов и хроматидные aberrации	77	-0,19**
СОД эритроцитов и одиночные фрагменты	77	-0,20**
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> н. и дицентрики, кольца	50	0,25*

\* - достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Позднее, эта же группа авторов (Oya et al., 1992), проведя экспериментальные исследования, подтвердила полученные ранее результаты. Однако, другими авторами, изучавшими действие «окислительного стресса» на хромосомный аппарат, появление aberrаций хромосомного типа в виде дицентрических и кольцевых хромосом зарегистрировано не было. Так, в модельной системе было индуцировано появление свободных радикалов в культуре клеток китайского хомячка (Uggla, 1990). Автор показал, что, независимо от этапа клеточного цикла, на котором происходит воздействие, свободные радикалы индуцируют только aberrации хроматидного типа. Aberrации хромосомного типа, в том числе дицентрические хромосомы, возникали только после дополнительного воздействия X-лучей. При оценке цитогенетического эффекта активных форм кислорода на лимфоциты человека были выявлены хромосомные нарушения, принадлежавшие исключительно к хроматидному типу (Duell et al., 1995).

По-видимому, наличие дицентрических и кольцевых хромосом у ликвидаторов не является прямым следствием воздействия перекиси водорода или ее производных. Зависимость между частотой дицентрических

хромосом и концентрацией  $H_2O_2$  свидетельствует о существовании общих биологических механизмов поддержания повышенного уровня как гиперпродукции АФК, так и радиационных маркеров.

Нами была показана также обратная корреляционная зависимость между частотой различных типов aberrаций у ЛПА – одиночных фрагментов, хроматидных обменов, дицентриков и колец и уровнем продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Известна мутагенность продуктов ПОЛ (Дурнев и др., 1998) поэтому выявленные обратные связи между цитогенетическими нарушениями и показателями ПОЛ у ликвидаторов нуждаются в объяснении. В предыдущих исследованиях (Говорова, Тихомирова, 1999; Зыбина, 200; Karg et al., 1999; Pascal et al., 2000), продемонстрировано, что показатели ПОЛ резко изменяются в зависимости от стадии развития заболевания: за высоким подъемом уровня ПОЛ следует его быстрое снижение, вплоть до нулевых значений. Вследствие этого у лиц, прошедших через этап массивного выброса продуктов ПОЛ, показатели ПОЛ могут быть даже ниже нормы. Поэтому выявляемые цитогенетические нарушения могут быть связаны как с предшествующим воздействием продуктов ПОЛ, так и с непосредственным воздействием факторов, приведших к дестабилизации организма (стресс, вирусная инфекция и т.п.). Полученные результаты, согласуются с данными В.П. Мищенко и соавторов (1993), которые отмечали сниженный уровень пероксидации в крови и интенсивности дыхательного взрыва активных нейтрофилов у лиц, участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС, через 5 лет. Ослабление активности нейтрофилов, а также мононуклеаров может быть связано с изменениями в структуре ДНК.

Выявлено также снижение частоты одиночных фрагментов при возрастании концентрации СОД у ЛПА. Зависимость частоты одиночных фрагментов от количества СОД описывалась уравнением линейной регрессии  $y = 4,452 - 0,465x$ , ( $p < 0,01$ ). В группе ЛПА с количеством СОД менее 3 отн.ед./мг белка, частота одиночных фрагментов ( $4,30 \pm 0,41$  %) в 2 раза превышала частоту одиночных фрагментов у лиц с количеством СОД более 3 отн.ед./мг ( $2,01 \pm 0,25$  %;  $p < 0,001$ ). Следовательно, СОД можно рассматривать как агент, защищающий геном клетки от повреждающего действия кластогенных факторов. В экспериментах *in vitro* (Larramendy et al., 1989) при использовании крови 10 различных доноров, показали обратную зависимость между чувствительностью хромосом к блеомицину (выражавшейся в увеличении частоты дицентрических хромосом) и концентрацией СОД в крови, плазме и красных кровяных клетках доноров.

Таким образом, проведенное сопоставление результатов анализа хромосомных aberrаций и некоторых показателей «окислительного стресса» у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленном периоде

после облучения выявило для некоторых цитогенетических характеристик прямую, а для других обратную связь с показателями «окислительного стресса». Выявленные взаимосвязи, по-видимому, не носят прямого причинно-следственного характера, но отражают сложные процессы, происходящие в организме лиц, подвергшихся действию ионизирующей радиации.

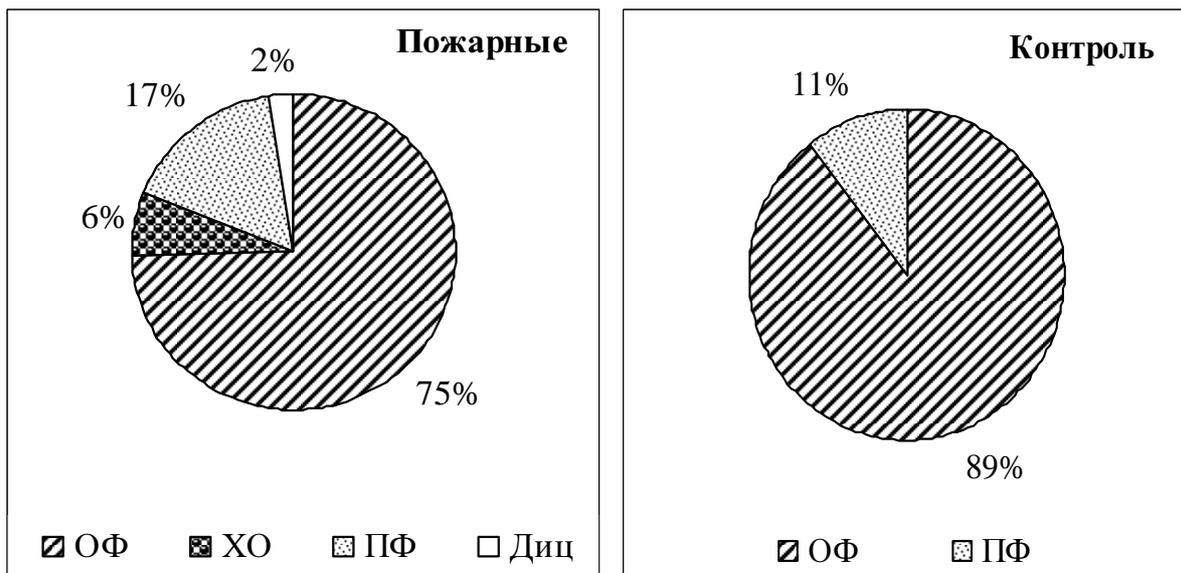
## 5.2. Пожарные

Обследование с целью установления мутагенной нагрузки прошли специалисты ГПС МЧС России. Всего обследовано 57 пожарных и 22 человека контрольной группы лиц сходного половозрастного состава, не имевших контактов с мутагенами. Мутагенную нагрузку регистрировали с помощью цитогенетических тестов – анализа нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови и анализа микроядер в бинуклеарных лимфоцитах. Все обследуемые проходили анкетирование с целью установления возможных путей дополнительных мутагенных воздействий.

В ходе исследования мутагенных нарушений в клетках пожарных и лиц контрольной группы были выявлены различные типы хромосомных нарушений – хроматидные aberrации (одиночные фрагменты и хроматидные обмены) и aberrации хромосомного типа (парные фрагменты и дицентрические хромосомы). В результате анализа полученной в ходе исследования информации был изучен спектр хромосомных нарушений (рис. 5.2.1) и установлена частота мутационных нарушений хромосомного комплекса клеток.

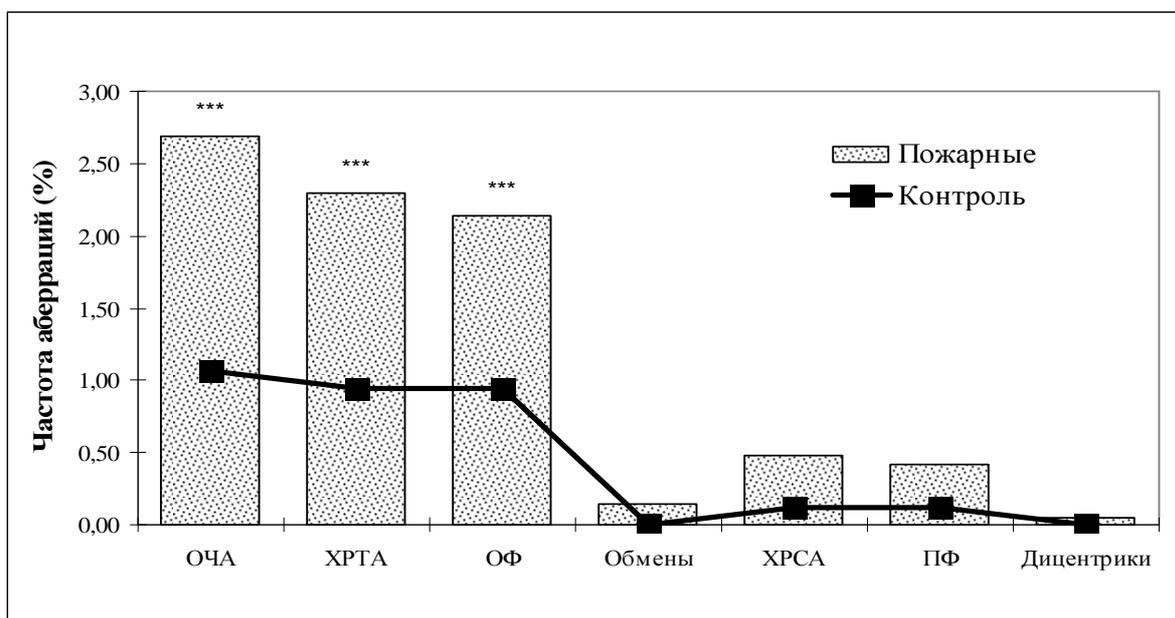
Как показывает рис. 5.2.1, спектр цитогенетических нарушений у пожарных значительно шире по сравнению со спектром нарушений у лиц, не имевших контактов с мутагенами. Так, в контроле было выявлено только два типа хромосомных aberrаций – хроматидные и хромосомные фрагменты, тогда как в группе экспонированных лиц появляются два дополнительных типа перестроек – хроматидные обмены и дицентрические хромосомы.

Результаты анализа количественных характеристик выявленных нарушений, представленные на рис. 5.2.2, свидетельствуют о том, что общая частота aberrаций, частота aberrаций хроматидного типа и одиночных фрагментов у пожарных достоверно ( $p < 0,001$ ) превышает контрольные показатели.



**Рис. 5.2.1.** Спектр различных типов хромосомных aberrаций у пожарных и в группе сравнения

(ОФ - одиночные фрагменты, ХО - хроматидные обмены, ПФ - парные фрагменты, Диц - дицентрики).

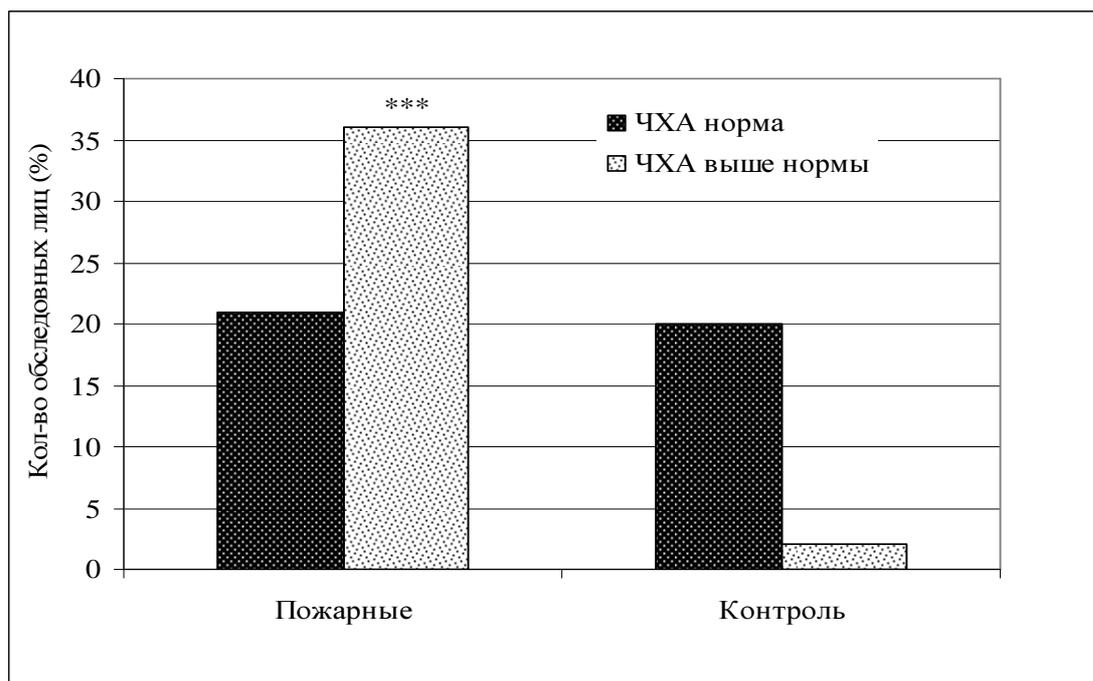


**Рис. 5.2.2.** Частота хромосомных aberrаций у пожарных и в контроле.

\*\*\* —отличие от контроля,  $p < 0,001$

(ОЧА - общая частота aberrаций, ХРТА - хроматидного типа aberrации, ХРСА - хромосомного типа aberrации)

При анализе распределения частоты выявленных нарушений среди пожарных были выявлены лица с частотой хромосомных aberrаций, превосходящей, иногда в несколько раз, показатели группы сравнения. Частота таких лиц составляет 63 % (рис. 5.2.3). Сравнительный анализ распределений обследованных доноров по частоте хромосомных aberrаций, соответствующей норме и превышающей нормальные показатели, свидетельствует о достоверных различиях распределений доноров контрольной группы и пожарных.



**Рис. 5.2.3.** Распределение доноров в зависимости от частоты хромосомных нарушений среди пожарных и группы контроля.

\*\*\* - отличие от контроля,  $p < 0,001$

При проведении микроядерного теста у человек было установлено, что частота клеток с микроядрами у пожарных составляет  $6,25 \pm 0,59$  ‰. Анализ частоты микроядер, выполненный и в контрольной группе ( $10,57 \pm 1,72$  ‰) и у пожарных, не выявил каких-либо индивидуальных или межгрупповых отличий. Так как возникновение хромосомных aberrаций и индукция микроядер отражают различные стороны и механизмы мутационного процесса, для доказательства наличия мутагенных воздействий на организм достаточно зарегистрировать отклонение от нормы любым из этих тестов.

Таким образом, проведенное обследование показало, что у ряда сотрудников ГПС МЧС России наблюдается значимое, по сравнению с контрольной группой, повышение частоты хромосомных aberrаций. Курение ус-

губляет повреждающий эффект производственных вредностей: частота хромосомных aberrаций у курящих пожарных выше, чем у некурящих.

### 5.3. Сотрудники поисково-спасательных формирований МЧС России

Проводили оценку генотоксического риска условий труда профессиональных спасателей МЧС России. Обследовано 88 сотрудников поисково-спасательных отрядов, принимавших непосредственное участие в поисково-спасательных работах и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. Средний возраст обследованных лиц составил  $36,6 \pm 0,9$  лет. Стаж работы в спасательных отрядах варьировал в пределах от полугода до 15 лет. В качестве контроля были обследованы 25 пациентов клиники ВЦЭРМ мужского пола аналогичного возраста  $38,0 \pm 4,0$  лет и состояния здоровья, не работавшие в трудных, опасных и вредных условиях.

Наряду с забором крови для цитогенетического анализа и оценки полиморфизма генов проводили анкетирование лиц, проходивших обследование. Во время анкетирования собирали подробную информацию о состоянии здоровья, характере работы, трудовом стаже, вредных и бытовых привычках.

Для изучения состояния генома соматических клеток при воздействии факторов среды в контрольной и опытной группе использовали метод анализа хромосомных aberrаций. Для оценки полиморфизма генов из периферической крови получали образцы ДНК стандартным способом, используя их для проведения ПЦР полиморфных фрагментов генов GSTM1 и GSTT1.

Результаты цитогенетического анализа спасателей представлены в табл. 5.3.1.

Общая частота aberrаций у обследованных лиц  $2,46 \pm 0,18$  % достоверно превышает показатель контроля ( $1,24 \pm 0,21$  %,  $p < 0,001$ ). При этом увеличение общей частоты хромосомных aberrаций происходит за счет увеличения количества одиночных фрагментов, частота которых почти вдвое превосходящих контрольный уровень ( $1,82 \pm 0,18$  % и  $0,94 \pm 0,16$  %, соответственно,  $p < 0,05$ ). Одиночные фрагменты – это тот тип хромосомных нарушений, который может быть индуцирован широким спектром мутагенных факторов. Частоты остальных типов выявленных хромосомных aberrаций не отличаются от таковых в группе контроля, однако при этом следует отметить, что в лимфоцитах спасателей появляются хроматидные обмены, отсутствующие в контрольной группе и характерные для действия мутагенов химической природы.

Таблица. 5.3.1

Частота разных типов хромосомных aberrаций в клетках периферической крови спасателей и в контроле

Группы обследуемых лиц	Общая частота aberrаций (%)	Частота aberrаций (%)			
		Хроматидного типа		Хромосомного типа	
		Одиночные фрагменты	Обмены	Парные фрагменты	Дицентрические хромосомы
Спасатели	2,46 ± 0,18***	1,82 ± 0,18*	0,09 ± 0,02	0,50 ± 0,06	0,02 ± 0,01
Контроль	1,24 ± 0,21	0,94 ± 0,16	0 ± 0,02	0,28 ± 0,10	0,02 ± 0,02

\* - отличие от контроля,  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

Таким образом, результаты цитогенетического обследования свидетельствуют о том, что спасатели МЧС России подвергаются действию генотоксических факторов.

По результатам анализа анкетных данных не удалось установить, какие именно вредные факторы ответственны за рост частоты хромосомных aberrаций, так как спектр потенциально мутагенных воздействий, которым подвергаются спасатели в ходе производственной деятельности, чрезвычайно широк. В анкетных данных спасателей есть указания на контакты с такими агентами, как ртуть, аммиак, хлор, фенол, тяжелые металлы, ионизирующее излучение, воздействие загазованной среды, высоких температур. Для многих из этих факторов показана мутагенная активность. Нельзя исключить и эффект синергизма, когда сочетание нескольких потенциально мутагенных факторов приводит к усиленному мутагенному эффекту.

Среди дополнительных мутагенных факторов, действию которых подвержены многие спасатели, наиболее общим и распространенным является курение. Мутагенное и канцерогенное действие курения широко известно (Porta et al., 2009; Roemer et al., 2009 и мн.др.). На цитогенетическом уровне негативный эффект курения проявляется, главным образом, на провоцирующем фоне – у лиц, дополнительно подвергающихся радиационным и/или химическим мутагенным воздействиям (Wu et al., 2000). В обследованной нами контрольной выборке влияние фактора курения на уровень хромосомных aberrаций не зарегистрировано. Не показано влияние курения на частоту хромосомных aberrаций и при анализе исторического контроля ВЦЭРМ, составляющего более 100 человек. Иная ситуация

наблюдалась у спасателей (табл. 5.3.2). Группа курящих состояла из 61 человека, группа некурящих – из 18 человек. Пять человек были исключены из исследования, так как незадолго до исследования бросили курить и не могли быть отнесены ни к одной из этих групп.

Как следует из табл. 5.3.2, в группе курящих спасателей наблюдается статистически значимое повышение общей частоты хромосомных aberrаций ( $2,59 \pm 0,22$  %;  $p < 0,05$ ) и частоты одиночных фрагментов ( $1,95 \pm 0,22$  %;  $p < 0,05$ ) по сравнению с таковой у некурящих ( $1,85 \pm 0,36$  % и  $1,13 \pm 0,31$  % соответственно).

Повышение частоты хромосомных aberrаций у курящих спасателей по сравнению с некурящими при отсутствии эффекта курения в контрольной группе позволяет говорить о синергизме курения и профессиональной мутагенной нагрузки спасателей.

С целью изучения индивидуальной чувствительности к действию генотоксических факторов в группе спасателей был проведен анализ полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1. По частоте распределения изучаемых генотипов группа спасателей соответствует европейской популяции (табл. 5.3.3).

**Таблица 5.3.2**

Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови спасателей в зависимости от курения

Группы обследуемых спасателей	Число лиц	Общая частота хромосомных aberrаций	Частота aberrаций (%)			
			Хроматидного типа		Хромосомного типа	
			Одиночные фрагменты	Обмены	Парные фрагменты	Дицентрические хромосомы
Курящие	61	$2,59 \pm 0,22^*$	$1,95 \pm 0,22^*$	$0,10 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,08$	$0,03 \pm 0,01$
Некурящие	18	$1,85 \pm 0,36$	$1,13 \pm 0,31$	$0,05 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,14$	$0,07 \pm 0,07$

- - отличие от некурящих спасателей,  $p < 0,05$

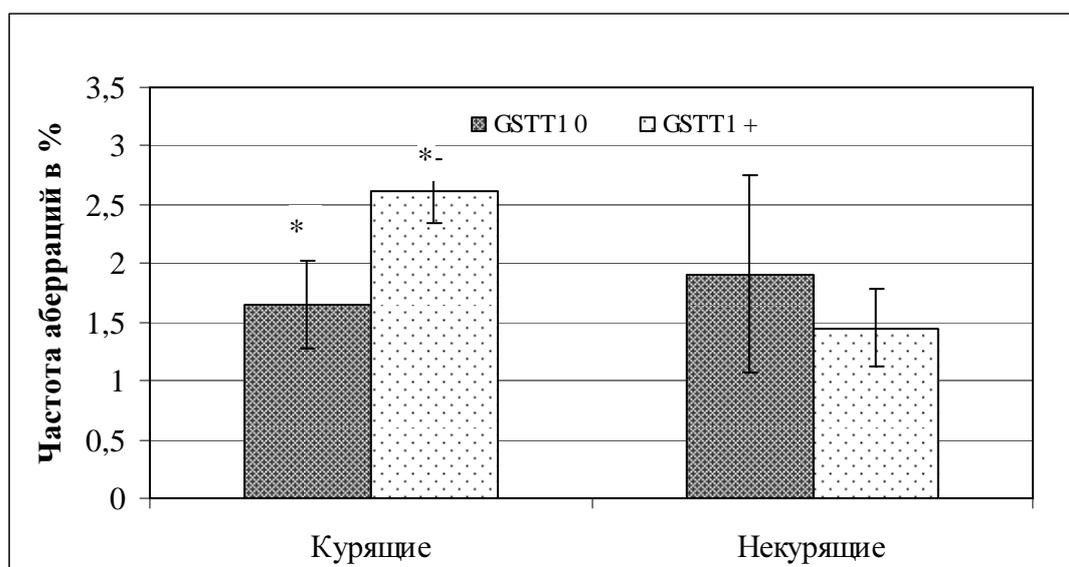
Сравнение частот хромосомных aberrаций у лиц с разными полиморфными состояниями анализируемых генов показало, что частота цитогенетических нарушений в общей группе спасателей не зависит от полиморфизма генов GSTM1 и GSTT1. Однако, зависимость уровня aberrаций от генотипа была выявлена у курящих спасателей – у лиц с генотипом GSST1 0 частота хромосомных aberrаций статистически значимо ниже, чем у лиц с генотипом GSTT1 + (рис. 5.3.1).

**Таблица 5.3.3**

Частота встречаемости генотипов по генам GSTM1 и GSTT1 в исследуемой группе спасателей МЧС России и в Европейской популяции

Генотипы	Группа спасателей МЧС России		Европейская популяция *	
	Количество лиц	Частота (%)	Количество лиц	Частота (%)
GSTM1 0	27	45,0 ± 6,4	67	46,2 ± 4,1
GSTM1 +	33	55,0 ± 6,4	78	53,8 ± 4,1
GSTT1 0	12	20,0 ± 5,1	19	13,1 ± 2,8
GSTT1 +	48	80,0 ± 5,2	126	86,9 ± 2,8

\*По данным Tuimala et al., 2004



**Рис. 5.3.1.** Делеционный полиморфизм гена GSTT1 и частота хромосомных aberrаций у курящих и некурящих спасателей.

\* - различия между группами,  $p < 0,05$

Следовательно, гомозиготность по делеции гена GSTT1 в определенной степени защищает организм от действия данного комплекса мутагенных факторов. Влияние полиморфного состояния генов GSTM1 и GSTT1 на частоты хромосомных нарушений в группах лиц, контактировавших с мутагенными факторами среды, показано в целом ряде исследований (Landi et al., 1996; Wiencke et al., 1995).

Так как гены GSTM1 и GSTT1 участвуют в детоксикации ксенобиотиков, можно предположить, что генотип GSST 0 препятствует активизации каких-либо генотоксических составляющих вредных воздействий на организм спасателей (Knudsen et al., 2001; Bonassi et al., 2002).

## ГЛАВА 6. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭКСПЕРТНОЙ ПРАКТИКЕ

Лица, пострадавшие при ЧС, или предполагающие, что они могли подвергнуться действию неблагоприятных факторов, обращаются в лечебные учреждения и в органы социальной защиты населения для установления связи возникших заболеваний с предшествующим воздействием неблагоприятных факторов ЧС и получения определенных льгот. Проведение генетических исследований может оказать существенную помощь в оценке связи между состоянием здоровья и мутагенной составляющей ЧС.

### 6.1. Биологическая дозиметрия и биоиндикация

Биологическая дозиметрия при ЧС ставит перед собой задачу выявления факта действия мутагенов на организм, определение природы мутагена и оценку степени мутагенного воздействия. Следует подчеркнуть, что биодозиметрия в строгом понимании этого термина применима только к оценке действия радиационного фактора, для которого разработаны соответствующие калибровочные кривые, позволяющие определить дозу облучения. В отношении химических и биологических мутагенов оценка дозы мутагенного воздействия не производится в связи с невозможностью построения соответствующих калибровочных кривых. Здесь речь может идти только о сравнительном анализе различных экспонированных групп в сопоставлении с интактной в отношении изучаемого параметра группой.

При авариях на объектах атомной промышленности и при других ЧС, где имело или могло иметь место воздействие ионизирующей радиации, с целью установления факта облучения и/или индивидуальной дозы облучения дозы применяются методы биологической дозиметрии. Согласно приказу Минздрава РФ № 20 от 24 января 2000 г. «О введении в действие руководства по организации санитарно-гигиенических и лечебно-профилактических мероприятий при крупномасштабных радиационных авариях», лечебно-профилактические мероприятия для участников ликвидации аварии осуществляются в соответствии с инструкциями для данных служб (пожарные, охрана МВД, спасатели МЧС России, аварийные бригады предприятия и тд.). (Приказ Минздрава РФ № 20 от 24 января 2000 г.)

Разработаны международные критерии оценки дозы облучения (IAEA, Vienna, 2001). В нашей стране выпущены зарегистрированные Минздравом РФ методические указания и медицинских технологии (Методика выполнения расчетов МВР 2.6.1.50-01, 2001; Медицинская технология..., 2007).

### 6.1.1. Проведение биологической дозиметрии в ближайшие сроки после радиационного воздействия

Определение индивидуальной дозы облучения в ближайшие сроки после аварии направлено, прежде всего, на выявление наиболее пострадавшего контингента с целью оказания адресной специализированной медицинской помощи. Исследование проводится методом анализа нестабильных хромосомных аберрации в культуре лимфоцитов периферической крови. Клиника, специализирующаяся в области радиационной медицины, при возникновении радиационных аварий направляет на место аварии медицинскую бригаду, имеющую в своем составе специалистов для проведения цитогенетических исследований.

Образцы крови желательно получить в первые часы после аварии. Кровь берут у пострадавших из вены в вакутейнеры с гепарином и отправляют в специализированные цитогенетические лаборатории. Хранение и транспортировка образцов могут осуществляться при комнатной температуре в течение суток, а в условиях охлаждения до + 6 °С до нескольких суток.

Культивирование лимфоцитов периферической крови и анализ препаратов осуществляют в соответствии с существующими стандартами исследования (Медицинские технологии..., 2007). Для нахождения метафазных пластинок и анализа нестабильных хромосомных аберраций могут быть использованы автоматизированные компьютерные системы. Такие системы применяются в работе ряда зарубежных лабораторий. Однако, их стоимость достаточно высока.

Существующие в настоящее время системы расчетов дозы облучения принимают во внимание только дицентрические и кольцевые хромосомы. Информация о других типах хромосомных аберраций важна для учета воздействия иных мутагенных факторов нерадиационной природы, которым могут подвергаться пострадавшие при ЧС.

В основу метода определения дозы облучения на основании частоты хромосомных аберраций положена идентичность кривых доза – эффект в системах *in vitro* и *in vivo*, продемонстрированная в многочисленных исследованиях. Построены дозовые кривые зависимости частоты хромосомных аберраций в культуре лимфоцитов периферической крови для различных видов излучений. Наряду с калибровочными кривыми имеются уравнения дозовой зависимости для различных видов излучений и различных типов хромосомных повреждений.

В общем виде уравнение связи дозы облучения с частотой хромосомных aberrаций описывается линейным или линейно-квадратичным уравнением:

$$Y = c + \alpha D + \beta D^2,$$

где  $Y$  - частота хромосомных aberrаций

$\alpha$  и  $\beta$  – коэффициенты, полученные в результате проведения экспериментальных исследований

$D$  – доза облучения.

Линейно-квадратичная зависимость характерна для  $X$  – или  $\gamma$  – облучения.

Для нейтронного облучения характерна линейная зависимость:

$$Y = c + \alpha D.$$

В табл. 6.1.1 представлены коэффициенты для некоторых видов излучений. На основании калибровочных кривых может быть произведено восстановление доз облучения, полученных при различных видах лучевого воздействия.

**Таблица 6.1.1**

Линейные коэффициенты для некоторых видов излучений

Тип излучения	$\alpha \pm SE$ (Гр <sup>-1</sup> )	$\beta \pm SE$ (Гр <sup>-2</sup> )
Co <sup>60</sup> $\gamma$ -лучи	0,018 ± 0,003	0,060 ± 0,003
250 kVp X-лучи	0,037 ± 0,006	0,067 ± 0,002
14.9 MeV нейтроны	0,20 ± 0,02	0,12 ± 0,02
Нейтроны деления (E=0.7 MeV)	0,83 ± 0,08	–
Тритий	0,054 ± 0,006	0,066 ± 0,007
Протоны (LET 5 ke V $\mu$ m <sup>-1</sup> )	0,044 ± 0,008	0,058 ± 0,006
$\alpha$ -частицы (LET 140 ke V $\mu$ m <sup>-1</sup> )	0,29 ± 0,03	–

При расчете дозовой нагрузки необходимо учитывать спонтанный уровень нестабильных хромосомных aberrаций в популяции. В целом, частота дицентрических и кольцевых хромосом в интактной популяции достаточно низка (0–2 дицентрика на 1000 клеток), однако, существуют районы, характеризующиеся повышенным уровнем хромосомных aberrаций. Лаборатории, специализирующиеся на проведении биологической дозиметрии, имеют в своем арсенале результаты цитогенетического обследования контрольных групп своих регионов.

При широкомасштабных ЧС или же ЧС в отдаленных районах, в которых спонтанный уровень хромосомных aberrаций ранее не определялся, для быстрого отбора наиболее пострадавших групп (сортировки пациен-

тов) может быть использован среднестатистический контрольный уровень хромосомных aberrаций. Однако, в дальнейшем, для проведения биологической дозиметрии с целью установления дозы облучения, желательно иметь данные о спонтанном уровне хромосомных aberrаций у лиц сходного поло-возрастного состава, проживавших в том же районе, но не пострадавших в результате ЧС.

Анализ нестабильных хромосомных aberrаций позволяет с высокой степенью точности оценить дозу острого равномерного облучения на протяжении двух месяцев после контакта с радиацией. В дальнейшем анализ нестабильных хромосомных aberrаций может быть использован в качестве способа биоиндикации – для выявления факта контакта с ионизирующим излучением.

#### 6.1.2. Проведение биологической дозиметрии в отдаленные сроки после радиационного воздействия

Биологическая дозиметрия в отдаленные сроки после облучения проводится тогда, когда, в силу различных причин, цитогенетический анализ нестабильных хромосомных aberrаций не был выполнен вскоре после контакта с радиацией. Восстановление индивидуальной дозы в отдаленном периоде после облучения используется, главным образом, в целях социальной защиты пострадавших.

С течением времени после облучения происходит элиминация нестабильных хромосомных aberrаций. Поэтому в отдаленном периоде после радиационного воздействия анализ нестабильных хромосомных aberrаций может использоваться только в качестве положительного теста на факт облучения. Дицентрические и кольцевые хромосомы – цитогенетические маркеры радиационного воздействия – могут быть обнаружены в культуре лимфоцитов периферической крови через несколько месяцев, лет и даже десятилетий после контакта с радиацией. Однако, отсутствие цитогенетических радиационных маркеров в отдаленном периоде не исключает возможности контакта с радиацией в прошлом.

Доказать факт облучения и оценить его дозу позволяет метод анализа стабильных хромосомных aberrаций, которые не элиминируются во времени. Анализ стабильных хромосомных aberrаций позволяет также в определенной степени судить о суммарной дозе, полученной в результате пролонгированного облучения. Стабильные хромосомные aberrации представляют собой перестройки хромосом, которые сохраняются при клеточных делениях. В биологической дозиметрии анализируют, главным образом, транслокации – обмены участками между различными хромосомами. Увидеть такие обмены при обычных способах окрашивания хромосом

можно лишь в исключительных случаях, когда, в результате транслокации образуются атипичные хромосомы, не характерные для кариотипа человека.

Стабильные хромосомные aberrации могут быть проанализированы с помощью метода G – бендирования, но эта цитогенетическая методика требует больших затрат времени. В настоящее время общепринятым методом определения дозы облучения в отдаленном периоде является цитогенетический анализ стабильных хромосомных aberrаций с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Процедуры культивирования крови и приготовления препаратов метафазных хромосом для ретроспективной дозиметрии принципиально не отличаются от проводимых при анализе нестабильных хромосомных aberrаций. Окрашивание препаратов по методу FISH представляет собой молекулярно-цитогенетическую технологию (Медицинская технология..., 2007), в ходе которой, после получения препаратов, проводится их предподготовка, включающая обработку препаратов пепсином. Затем следует денатурация ДНК хромосом и их гибридизация с ДНК-пробой. Для анализа частоты транслокаций используют ДНК-зонды для различных хромосом, например, 1-й и 4-й. После отмывки препараты высушивают и хранят при  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента проведения их анализа под микроскопом. Конкретные протоколы проведения процедур зависят от ряда факторов, в том числе – от рекомендаций фирмы-изготовителя ДНК-зондов. Анализ препаратов проводят под флуоресцентным микроскопом при  $100\times$  увеличении объектива и мощности лампы осветителя не менее 100 WT. Очень важно также качество флуоресцентных фильтров для микроскопов. При цитогенетическом анализе производится учет числа транслокаций в среднем в 1000 клеток.

Для нахождения метафазных пластинок и анализа стабильных хромосомных aberrаций могут быть использованы автоматизированные компьютерные системы, однако, стоят они достаточно дорого и в настоящее время используются лишь в единичных лабораториях.

Как и в случае нестабильных хромосомных aberrаций, в основу метода восстановления дозы облучения положена идентичность кривых доза - эффект в системах *in vitro* и *in vivo*. Имеются дозовые кривые зависимости частоты стабильных хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови для различных видов излучений. Наряду с калибровочными кривыми разработаны уравнения дозовой зависимости для различных видов излучений. В общем виде уравнение связи дозы облучения с частотой хромосомных aberrаций описывается линейным или линейно-квадратичным уравнением. Спонтанный уровень транслокаций, определенный методом FISH, характеризуется значительно большей вариабель-

ностью, чем спонтанный уровень дицентриков. На частоту транслокаций, в отличие от частоты дицентриков, влияет целый ряд дополнительных факторов – возраст обследуемых, контакты с химическими мутагенами и пр. При восстановлении дозы облучения на основании анализа транслокаций необходимо также учитывать, какая часть генома (сколько пар хромосом и какого размера) была исследована у данного пациента.

Ретроспективные исследования в отдаленном периоде после аварии с целью экспертной оценки дозы облучения, проводятся только при личной явке заинтересованного лица и сдаче крови в специализированном центре.

### 6.1.3. Анкетирование обследуемых

Для всех лиц, которые проходят обследования с целью проведения биологической дозиметрии, должна быть заполнена соответствующая анкета. Анкета направлена на получение сведений об образе жизни, заболеваниях, а также дополнительных мутагенных воздействиях на организм, которые могут повлиять на точность результатов биологической дозиметрии.

Форма анкеты создается на основании международных стандартов с учетом специфики изучаемого контингента. Анкетирование целесообразно производить в виде диалога с обследуемыми, разъясняя некоторые пункты анкеты и задавая дополнительные вопросы, способствующие получению наиболее полной информации о дополнительных факторах и воздействиях, существенных для интерпретации результатов обследования. В качестве примера приводится образец анкеты для участника ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС:

ФИО	
История болезни:	
Дата поступления:	
Адрес:	
Телефон:	
Зона проживания:	
Дата рождения:	
Пол:	
Национальность:	
Семейное положение:	
Дети:	
Дети после работы в экстремальных условиях:	
Количество выездов в зону:	

Дата первого выезда:	
Дата последнего выезда:	
Основное место пребывания:	
Характер работы:	
Диспептический синдром:	
Легочный синдром:	
Ожоги кожи:	
Вегето-дистонический синдром:	
Геморрагический синдром:	
Физическая доза (Бэр):	
Цитогенетическое обследование в зоне:	
Питание:	
Купание:	
Пребывание на солнце:	
Причина участия в ликвидации аварии:	
Выполняемая работа:	
<b>ИСТОРИЯ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ</b>	
Работа в настоящее время:	
Характер труда:	
Признана ли работа официально вредной:	
Доп. вредные возд. в наст. вр.(посл. год):	
Доп. вредные возд. за всю труд. деятельность:	
<b>ИСТОРИЯ КУРЕНИЯ</b>	
Длительность курения:	
Пассивное курение:	
<b>МЕДИЦИНСКАЯ ИСТОРИЯ</b>	
Прием лекарств в теч. посл. года:	
Заболевания в анамнезе:	
Заболевания в теч. посл. года:	
Высокая температура в теч. посл. года:	
Прививки за последний год:	
Рентгенологические воздействия в анамнезе:	
Рентгенологические возд. за посл. год:	
<b>ИСТОРИЯ ПИТАНИЯ</b>	
Особенности питания:	
Алкогольные напитки:	
<b>ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИСТОРИЯ</b>	
Наследственные заболевания в семье:	

При ЧС, в условиях дефицита времени, содержание анкеты может быть резко сокращено, однако некоторые пункты, которые могут иметь принципиально важное значение для адекватной оценки дозы облучения, необходимо заполнить (например, рентггенологические воздействия, лечение цитостатиками).

Анализ анкетных данных оказывается особенно важным в тех случаях, когда в результате цитогенетического исследования получены результаты, не соответствующие показателям контрольной группы. По данным работ отечественных исследователей общая частота хромосомных aberrаций у здоровых необлученных лиц колеблется в пределах от 0 до 5%, при этом основной вид aberrаций в норме – фрагменты, главным образом, одиночные. Применительно к радиационным маркерам контрольный уровень соответствует 0–1 дицентрической хромосоме на 1000 проанализированных метафаз. Превышение этого уровня (2 и более дицентрические хромосомы) считается свидетельством облучения.

После ЧС лица, подвергшиеся действию облучения, обращаются в различные инстанции с целью получения определенной социальной поддержки, в том числе – и в виде установления связи возникших заболеваний с участием в ликвидации последствий ЧС.

В настоящее время при оценке мутагенной составляющей радиационной опасности принята концепция беспороговости, в основе которой лежит постулат о том, что стохастические эффекты могут быть вызваны сколь угодно малыми дозами ионизирующих излучений и любое превышение естественного радиационного фона может приводить к возникновению генетических нарушений в клетках и к их злокачественной трансформации. Поэтому связь инвалидности и смертности от онкологических заболеваний для облученных лиц устанавливается независимо от дозы облучения.

При назначении иных видов социальной поддержки пострадавших от действия радиации законодатель в ряде случаев учитывает дозовую нагрузку каждого конкретного человека. Для определения или уточнения дозы облучения, особенно в тех ситуациях, когда отсутствуют данные физической дозиметрии, применяется цитогенетический анализ.

При интерпретации результатов цитогенетического исследования большое значение имеет временной интервал между облучением и обследованием. Чем быстрее после ЧС проведен анализ нестабильных хромосомных aberrаций, тем выше информативность исследования и тем точнее будет определена доза облучения. По прошествии нескольких месяцев применение данного цитогенетического метода позволяет говорить только о биологической индикации факта радиационного воздействия. В даль-

нейшем (через годы после облучения) специфические для действия радиации цитогенетические маркеры сохраняются не у всех облученных лиц. Поэтому анализ нестабильных хромосомных aberrаций не всегда дает положительный результат при подтверждении факта облучения в отдаленном периоде. В тех случаях, когда оценка дозы облучения в отдаленном периоде после аварийной ситуации имеет принципиально важное значение для экспертных советов по связи заболеваний с предшествовавшим радиационным воздействием, большую помощь может оказать молекулярно-генетический метод анализа стабильных хромосомных aberrаций (FISH).

При консультировании лиц, подозревающих, что они были облучены, представляется важным учет фактора радиофобии. Если контакт с радиацией представляется врачу сомнительным, все же, при большой обеспокоенности пациента, рекомендуется выполнить анализ хромосомных aberrаций. Документальное подтверждение отсутствия надфоновое облучения с одной стороны, снимет психологическое напряжение у пациентов, и, с другой стороны, направит их усилия в сторону поиска истинных причин проблем со здоровьем.

В заключение следует подчеркнуть, что проведение исследований с целью выявления действия мутагенных факторов на организм человека и проведения биологической дозиметрии должно осуществляться только в специализированных учреждениях, имеющих соответствующий штат высококвалифицированных специалистов. Эти лаборатории в своей деятельности должны руководствоваться принятыми стандартными процедурами биологической дозиметрии.

## 6.2. Установление связи генетической патологии у детей с мутагенными воздействиями на родителей

Супружеские пары, хотя бы один из членов которых был вовлечен в ЧС, при возникновении репродуктивных проблем (бесплодие, рождение детей с пороками развития, спонтанное прерывание беременности и др.) в качестве одной из основных причин рассматривают действие мутагенных факторов ЧС (главным образом, радиации). Обращаются во ВЦЭРМ и некоторые супружеские пары, планирующие беременность и обеспокоенные возможными негативными последствиями облучения одного из супругов.

Запросы поступают и в адрес Санкт-Петербургского регионального межведомственного экспертного совета по установлению причинной связи заболеваний, инвалидности и смерти граждан, подвергшихся воздействию радиационных факторов. Облученные лица, у которых после аварии родились дети с теми или иными генетическими заболеваниями, напрямую свя-

зывают болезни детей с предшествующим радиационным воздействием. Они хотят получить документальное подтверждение этой связи.

Как свидетельствуют данные, представленные в главе 4, проблема генетических последствий облучения человека окончательно не решена.

При чрезвычайных ситуациях, характеризующихся кратковременным воздействием потенциальных мутагенов, к общим проблемам регистрации мутагенных эффектов присоединяется дифференциальная чувствительность различных стадий созревания половых клеток.

В связи с многообразием факторов, которые должны быть учтены при установлении связи патологии потомства с воздействием мутагенов на родителей, невозможно предложить стандартный алгоритм принятия решений. Каждый случай является в своем роде уникальным и требует индивидуального подхода.

При рассмотрении вопроса о связи рождения больного ребенка с мутагенными воздействиями на организм родителей представляется целесообразным:

1. Направить супружескую пару в медико-генетическую консультацию с тем, чтобы верифицировать диагноз генетического заболевания и исключить его семейный характер.
2. Изучить, какие именно мутагенные воздействия (а также другие факторы – например, лекарственные препараты, температура, стресс и т.п. имели место) и постараться оценить их повреждающую способность.
3. Установить, возможно более точно, дату зачатия и сопоставить ее со временем воздействия мутагенов.

Последний вопрос важен в связи с механизмом созревания половых клеток и оплодотворения у человека. Известно, что половые клетки в состоянии покоя относительно устойчивы к действию мутагенов. Однако, за два месяца и менее до момента зачатия, вероятность генетических эффектов значительно возрастает. Повышенная чувствительность к действию мутагенов наблюдается также в период оплодотворения и первых делений дробления эмбриона. Поэтому рождение детей с синдромом Дауна или иной хромосомной патологией после облучения в эти критические периоды (если то, что хромосомная патология возникла *de novo* у облученного родителя, будет подтверждено результатами цитогенетического и молекулярно-генетического анализа при медико-генетическом консультировании) может рассматриваться как результат воздействия радиации.

Консультация лиц, планирующих беременность и имевших контакт с радиационным или иным мутагенным фактором, должна включать тщательный опрос супругов на предмет установления сценария воздействия.

Затем проводится анализ хромосомных aberrаций – цитогенетических маркеров мутагенных воздействий. В трактовке результатов исследования важны не только частота, но и спектр выявленных хромосомных нарушений. Наличие дицентрических и/или кольцевых хромосом свидетельствует об имевшем место контакте с радиационным фактором. В случае недавнего облучения цитогенетический анализ позволяет с высокой степенью точности определить дозу облучения. Некоторые виды хромосомной патологии свидетельствуют о воздействии мутагенов нерадиационной природы. При обнаружении повышенного уровня хромосомных aberrаций у мужчин мы дополнительно производим FISH-диагностику спермы с целью установления уровня анеуплоидии в сперматозоидах. Супружеской паре, в которой обнаруживается повышенный уровень анеуплоидии в гаметах, рекомендуется обращение в медико-генетическую консультацию и, в случае беременности, проведение пренатальной диагностики.

При обращении лиц, связывающих неудачи репродукции с воздействием мутагенов, не следует упускать из виду и другие причины, вызывающие репродуктивные проблемы, среди которых носительство хромосомной патологии у членов супружеской пары. Поэтому, наряду с анализом хромосомных aberrаций, пациентам может быть рекомендовано кариотипирование. Мужчинам с нарушением сперматогенеза мы также выполняем молекулярно-генетическую диагностику генов мужского бесплодия.

Таким образом, следует еще раз подчеркнуть, что проведение оценки генетической опасности действия радиационного и иных мутагенных факторов при консультировании супружеских пар в настоящее время невозможно уложить в рамки строгого алгоритма. Каждый случай является уникальным и требует индивидуального подхода.

### Заключение

Чрезвычайные ситуации как природного, так и техногенного характера стали реалиями жизни современного человека. Среди опасностей, которые несут ЧС, – воздействие мутагенных или потенциально мутагенных веществ и мутагенных факторов физической природы.

Спасатели МЧС России регулярно выезжают к местам аварий, пожаров и иных ЧС. Следовательно, для этой категории граждан существует реальная опасность контакта с мутагенами окружающей среды.

Зарегистрировать факт мутагенных воздействий, оценить степень мутагенной нагрузки, позволяют цитогенетические методы биоиндикации и биодозиметрии. Эти методы были применены нами при оценке мутагенной нагрузки, которой подверглись лица, принимавшие непосредственное участие в ликвидации последствий ЧС. Цитогенетическое обследование

прошли ЛПА, пожарные и сотрудники поисково-спасательных отрядов МЧС России.

Наблюдение за состоянием генетического аппарата ЛПА выявило длительное сохранение цитогенетических маркеров радиационного воздействия в лимфоцитах периферической крови, а также связь ряда цитогенетических показателей с некоторыми видами соматической патологии ЛПА. Причины и механизмы этих явлений еще не нашли своего объяснения.

Оценка мутагенной нагрузки труда пожарных и сотрудников поисково-спасательных формирований показала, что спасатели в своей профессиональной деятельности подвергаются действию генотоксических факторов.

Выявлены значительные межиндивидуальные различия по уровню генетической патологии. Показано наличие связи заболеваемости с генотипами участников ликвидации последствий аварий.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости мониторингового наблюдения за мутагенной нагрузкой спасателей и пожарных и изучения индивидуальных особенностей их генотипа с целью проведения адресных профилактических мероприятий, направленных на увеличение срока профессионального долголетия сотрудников МЧС России.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алексанин С.С, Слозина Н.М, Неронова Е.Г., Тимофеева М.Н. Цитогенетическое обследование профессиональных спасателей МЧС России // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007.– Т. 144, № 10. – С. 437-441.

Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э. и др. Геном человека и гены «предрасположенности». (Введение в предиктивную медицину). – СПб., 2000. – 272с.

Бочков Н.П. Генетические эффекты чернобыльской аварии: факты и прогнозы // Генетика. – 1994. – Т. 30. – С. 18.

Бочков Н.П. Клиническая генетика. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448с.

Бурлакова Е.Б., Михайлов В.Ф., Мазурик В.К. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцированной нестабильности генома // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2001– Т. 41, № 5. – С. 489-500.

Говорова Л.В., Тихомирова О.В. Прогноз характера течения и исходов ОРВИ на основании определения интенсивности перекисного окисления липидов в клетках крови в остром периоде заболевания / Информ. письмо. - СПб; НИИДИ, 1991.– С.20.

Голубовский М.Д., Н.Я. Вайсман. Гены рака, стресс и долголетие: гармонический антагонизм // Природа – 2006.– №12, – Электронный ресурс.–Режим доступа :

[http://vivovoco.rsl.ru/VV/JOURNAL/NATURE/12\\_06/GOLUB.HTM](http://vivovoco.rsl.ru/VV/JOURNAL/NATURE/12_06/GOLUB.HTM)

Гордышевский С.М. Экологические риски при мусоросжигании. Электронный ресурс.– Режим доступа:

<http://www.ecounion.ru/ru/site.php?content=detailcontent.php&blockType=142&blockID=719>

Гребенюк А.Н., Носов А.В., Мусийчук Ю.И, Рыбалко В.М. Медицинские и защитные мероприятия при химических авариях и катастрофах // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. – 2009. – № 2. – С. 14–20.

Григорьева С.А. Изучение генетически обусловленной чувствительности к действию мутагенов окружающей среды в индуцированном мутагенезе на клетках человека // автореф. дисс. к.м.н. Москва – 2007.

Дурнев А.Д. Мутагены: Скрининг и фармакологическая профилактика воздействий // М., Медицина. – 1998. – 328 с.

Дурнев А.Д., Среденин С.Б. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействия) / М.: «Медицина». – 1998. – 327 с.

Зыбина Н.Н. «Окислительный стресс» и состояние антиоксидантной системы / Патология отдаленного периода у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. – СПб.: Бинوم. – 2002. – С.70–82.

Ингель Ф.И., Прихожан А.М. Связь эмоционального стресса у жителей г. Чапаевска с токсикологическими и генетическими показателями // Гигиена и сан. – 2002, № 1. – С. 13–19.

Колычева И., Лахман О. Условия труда и здоровье пожарных // Пожарное дело. – 2006. – № 8. – С. 36–42.

Лазюк Г.И., Зацепин И.О., Верже П. и др. Синдром Дауна и ионизирующая радиация: причинно-следственная связь или случайная зависимость // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002.– № 6– С. 678–683.

Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: патология отдаленного периода и особенности медицинского обеспечения: руководство для врачей/ Изд. 2-е, перераб. и доп., под ред. профессора С.С. Алексанина. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. – 440 с.

Лобашев М. Е. / Генетика – Л., 1967. – 752 с.

Медицинская технология №ФС-2007/015-У. Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов.– М, 2007.– 29 с.

Методика выполнения расчетов МВР 2.6.1.50-01. Определение поступления радионуклидов и индивидуальной эффективной дозы облучения по результатам измерений на СИЧ содержания радионуклидов в теле человека для персонала атомных станций / Библиотека ГОСТов и нормативных документов. – 2001. – 27 с.

Методические рекомендации. Определение генетической предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья. Ред. В.С. Баранов и Э.К. Айламазян. – СПб., 2009 – 66 с.

Мищенко В.П, Грицай Н.Н., Литвин А.А. Состояние физиологических защитных систем крови человека в отдаленные периоды после воздействия ионизирующей радиации, связанной с аварией на Чернобыльской АЭС // Гематол. и трансфузиология. – 1993. – Т. 38, № 3.– С. 30-33.

Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН / UNSCEAR): Hereditary Effects of Radiation. – Нью-Йорк, 2001. – 84с.

Определение генетической предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья. Методические рекомендации. Ред. В.С. Баранов и Э.К. Айламазян. – СПб., 2009 – 66 с.

Приказ Минздрава РФ № 20 от 24 января 2000г. «О введении в действие руководства по организации санитарно - гигиенических и лечебно –

профилактических мероприятий при крупномасштабных радиационных авариях».

Руководство по изучению генетических эффектов в популяции человека. - Женева: ВОЗ, 1989. – 121 с.

Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике. - М.: МИА., 2004.– 304с.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Хромосомные нарушения в ооцитах крыс после стрессового воздействия в преовуляторном периоде // Цитология и генетика – 1990. - Т. 24, № 3. – Р. 37–40.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Хромосомные аномалии человека и внутриутробный отбор. Исследование мужских гамет // Цитология и генетика. – 1992а. – Т. 26, №. 3. – С. 67–72.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Хромосомные аномалии человека и внутриутробный отбор. Исследование женских гамет. // Цитология и генетика. – 1992б. – Т. 26, №. 6. – С. 58–63.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Зыбина Н.Н., Шантырь И.И. К оценке влияния малых доз радиации на состояние здоровья ликвидаторов // IV съезд по радиобиол. исслед. – М., 2001. – С. 222.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Линская М.Н., Никифоров А.М. О некоторых сложностях в оценке радиационно-индуцированных мутагенных эффектов у человека // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т. 42, № 6. – С. 689–691.

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Никифоров А.М. Генетическая патология соматических клеток у пострадавших вследствие Чернобыльской катастрофы. // Международный журнал радиационной медицины. – 2002. – Т. 4, № 1–4. – С. 194–200.

Худолей В.В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия – СПб.: НИИ Химии, СПбГУ, 1999. – 419 с.

Черняк Ю.И., Портяная Н.И., Меринова А.П. и др. Определение энзиматической активности цитохрома P450 (CYP) 1A2 у "щелеховских" пожарных // Токсикол. вестн. – 2002. – №2. – С. 5–10.

Albertini R.J., Anderson D., Douglas G.R., Hagmar L., Hemminki K., Merlo F., Natarajan A.T., Norppa H., Shuker D.E., Tice R., Waters M.D., Aitio A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety // Mutat Res. – 2000. – V. 463, N. 2. – P. 111–172.

Abraham M.R., Olson L.J, Joyner M.J., Turner S.T., Beck K.C., Johnson B.D. Angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in treated patients with congestive stable heart failure // Circulation. – 2002. – V. 1. – P. 1794–1799.

Ambrus J.L., Islam A., Akhter S., Dembinski W., Kulaylat M., Ambrus C.M. Multiple medical problems following agent orange exposure // *J Med.* 2004. – V. 35, N. 1–6. – P. 265–269.

Angelini S., Kumar R., Carbone F., Bermejo J.L., Maffei F., Cantelli-Forti G., Hemminki K., Hrelia P. Inherited susceptibility to bleomycin-induced micronuclei: correlating polymorphisms in GSTT1, GSTM1 and DNA repair genes with mutagen sensitivity // *Mutat Res.* – 2008 – V, 638, N. 1–2. – P. 90–97.

Au W.W., Walker D.M., J.B. Ward Jr., Whorton E., Legator M.S., Singh V. Factors contributing to chromosome damage in lymphocytes of cigarette smokers. // *Mutat Res.* – 1991. – V. 260 – P. 137–144.

Austin C.C., Wang D., Ecobichon D.J., Dussault G. Characterization of volatile organic compounds in smoke at municipal structural fires // *J Toxicol Environ Health* – 2001. – V. 63, N. 6. – P. 437–458.

Baudin B. New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease // *Clin Chem Lab Med.* – 2002. – V. 40. – P. 256–265.

Bender M.A., R.J. Preston, R. C. Leonard, B. E. Pyatt, P.C. Gooch M., Shelby D. Chromosomal aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample // *Mutat Res.* – 1988. – V. 204. – P. 421–433

Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment // Technical report, series No.260.-Vienna: IAEA, 1986. – 76p.

Bonassi S., Au W.W., Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction // *Mutation Res.* – 2002. – N. 7675. – P. 1–14.

Bonassi S., Hagmar L., Stromberg U., Montagud A.H., Tinnerberg H., Forni A., Heikkila P., Wanders S., Wilhardt P., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Norppa H. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health // *Cancer Res.* – 2000 – V.60, N. 6. – P. 1619–1625.

Burgess J.L., Fierro M.A., Lantz R.C., Hysong T.A., Fleming J.E., Gerkin R., Hnizdo E., Conley S.M., Klimecki W. Longitudinal decline in lung function: evaluation of interleukin-10 genetic polymorphisms in firefighters // *J Occup Environ Med.* – 2004. – V. 46, N. 10, – P. 1013–1022.

Caux C., O'Brien., Viau C. Determination of firefighter exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene during fire fighting using measurement of biological indicators // *Appl. Occup. Environ. Hyg.* – 2002. - N. 5. – P. 379–386.

Infante-Rivard C., Siemiatycki J., Lakhani R., Nadon L. Maternal Exposure to Occupational Solvents and Childhood Leukemia // *Environ Health Perspect.* – 2005. – V. 113, N. 6. – P. 787–792.

Consonni D., Pesatori A.C., Zocchetti C., Sindaco R., D'Oro L.C., Rubagotti M., Bertazzi P.A. Mortality in a population exposed to dioxin after the Se-

veso, Italy, accident in 1976: 25 years of follow-up // *Am J Epidemiol.* – 2008. – V. 167, N. 7. – P. 847–858.

da Cruz AD, de Melo e Silva D, da Silva CC, Nelson RJ, Ribeiro LM, Pedrosa ER, Jayme JC, Curado MP. Microsatellite mutations in the offspring of irradiated parents 19 years after the Cesium-137 accident. *Mutat Res.* – 2008. – V. 652, N. 2. – P. 175–179.

Dhillon V.S., Dhillon I.K. Chromosome aberrations and sister chromatid exchange studies in patients with prostate cancer: possible evidence of chromosome instability // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 1998. – V. 15. – P. 143–147.

Dimitroglou E., Zafiropoulou M., Messini-Nikolaki N., Doudounakis S., Tsilimigaki S., Piperakis S.M. DNA damage in a human population affected by chronic psychogenic stress // *Int J Hyg Environ Health.* – 2003. – V. 206, N. 1. – P. 39–44.

Draper G. Preconception exposures to potential germ-cell mutagens Radiation Protection Dosimetry Advance // *Radiation Protection Dosimetry 2008* – V. 132, N. 2, – P. 241–245.

Dubrova Y.E., Grant G., Chumak A.A., Stezhka V.A., Karakasian A.N. Elevated minisatellite mutation rate in the post-Chernobyl families from Ukraine. // *Am J Hum Genet.* – 2002. – V. 71. – P. 801–809.

Duell T., Lengfelder E., Fink R., Giesen R., Bauchinger M. Effect of activated oxygen species in human lymphocytes // *Mutat Res.* – 1995.– V. 336, N. 1. – P. 29–38.

Durkin J. Stress – who does it affect? // *Fire.* – 2001. – V. 93, N. 1154. – P. 18–19.

Edelman P., Osterloh J., Pirkle J., Caudill S.P., Grainger J., Jones R., Blount B., Calafat A., Turner W., Feldman D., Baron S., Bernard B., Lushniak B.D., Kelly K., Prezant D. Biomonitoring of chemical exposure among New York City firefighters responding to the World Trade Center fire and collapse // *Environ Health Perspect.* – 2003. – V. 111, N. 16. – P. 1906–1911.

El-Zein R., Abdeli-Rahman S.Z., Conforti-Froes N., Alpard S.K., Zwischenberger J.B. Chromosome aberrations as a predictor of clinical outcome for smoking associated lung cancer // *Cancer Lett.* – 2000. – V. 158, N. 1. – P. 65–71.

Fireman E.M., Lerman Y., Ganor E., Greif J., Fireman-Shoresh S., Liou P.J., Banauch G.I., Weiden M., Kelly K.J., Prezant D.J. Induced sputum assessment in New York city firefighters exposed to world trade center dust // *Environ Health Perspect.* – 2004. – V. 112, N. 15. – P. 1564–1569.

Ford J.H., Behrens D., McCarthy C., Mills K., Thomas P., Wilkin H.B. Sporadic chromosome abnormalities in human lymphocytes and previous exposure to chemicals // *Cytobios.* – 1998. – V. 96, N. 383. – P. 179–192.

Fujiwara S., Suyama A., Cologne J.B., Akahoshi M., Yamada M., Suzuki G., Koyama K., Takahashi N., Kasagi E., Grant E.J., Lagarde E., Hsu W.L., Furukawa K., Ohishi W., Tatsukawa Y., Neriishi K., Takahashi I., Ashizawa K., Hida A., Imaizumi M., Nagano J., Cullings H.M., Katayama H., Ross N.P., Kodama K., Shore R.E. Prevalence of adult-onset multifactorial disease among offspring of atomic bomb survivors // *Radiat Res.* – 2008. – N. 4. – P. 451–457.

Greinert R., Thieke C., Detzler E., Boguhn O., Frankenberg D., Harder D. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by 3.45 MeV alpha particles analyzed by premature chromosome condensation // *Radiat Res.* – 1999. – V. 152, N. 4. – P. 41–420.

Hagmar L., Stromberg U., Tinnerberg H., Mikoczy Z. The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. // *Int J Hyg Environ Health.* – 2001. – V. 204, N. 1. – P. 43–47.

Hagmar L., Bonassi S., Stromberg U., Brogger A., Knudsen L.E., Norppa H., Reuterwall C. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH) // *Cancer Res.* – 1998. – V. 58, N. 18. – P. 4117–4121.

Hagmar L., Bonassi S., Stromberg U., Mikoczy Z., Lando C., Hansteen I.L., Montagud A.H., Knudsen L.E., Norppa H., Reuterwall C., Tinnerberg H., Brogger A., Forni A., Hogstedt B., Lambert B., Mitelman F., Nordenson I., Salomaa S., Skerfving S. Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs // *Resent Results Cancer Res.* – 1998. – V. 154. – P. 177–184.

Hahnfeldt P., Hlatky L.R., Brenner D.J., Sachs R.K. Chromosome aberrations produced by radiation: The relationship between excess acentric fragments and dicentrics // *Radiat Res.* – 1995. – V. 141. – P. 136–152.

Hatagima A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility // *Cad. Saude Publica.* – 2002. – V. 18, N. 2. – P. 357–377.

Herrmann S.M., Nicaud V., Schmidt-Petersen K., Pfeifer J., Erdmann J., McDonagh T., Dargie H.J., Paul M., Regitz-Zagrosek V. Angiotensin II type 2 receptor gene polymorphism and cardiovascular phenotypes: the GLAECO and GLAOLD studies // *Eur. J. Heart Fail.* – 2002. – V. 4, N. 6. – P. 707–712.

Huttner E., Gotze A., Nikolova T. Chromosomal aberrations in humans as genetic endpoints to assess the impact of pollution // *Mutat Res.* – 1999. – V. 445, N. 2. – P. 251–257.

Huttner E., Gotze A., Nikolova T. Chromosomal aberrations in humans as genetic endpoints to assess the impact of pollution // *Mutat. Res.* – 1999. – V. 445, N. 2. – P. 251–257.

Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. A Manual. Technical Report Series, N. 405. – Vienna: IAEA, 2001. – 127p.

Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsière T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature // *Mutat Res.* - 2008. – V. 658, N. 3. – P. 215–233.

Iarmarcovai G., Bonassi S., Botta A., Baan R.A., Orsière T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature // *Mutat Res.* – 2008. – V. 658, N. 3. – P. 215–233.

Ingelman-Sunberg M. Genetic variability in susceptibility and response to toxicants // *Toxicol. Letters* – 2001. – N. 120. – P. 259–268.

Ishichara T., Kohno S., Minamihisamatsy M. Radiation exposure and chromosomal abnormalities: human cytogenetic studies at the National Institute of Radiological Sciences, Japan, 1963-1988 // *Cancer Genet. Cytogenet.* - 1990. – V. 45, N. 1. – P. 13–35.

Jacobson-Kram D., Albertini R.J., Branda R.F., Falta M.T., Iype P.T., Kolodner K., Liou S.H., McDiarmid M.A., Morris M., Nicklas J.A., et al. Measurement of chromosomal aberrations, sister chromatid exchange, hprt mutations, and DNA adducts in peripheral lymphocytes of human populations at increased risk for cancer // *Environ Health Perspect.* - 1993. – V. 101, Suppl. 3. – P. 121–125.

Jalil J.E., Cordova S., Ocaranza M., Schumacher E., Braun S., Chamorro G., Fardella C., Lavandero S. Angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and adrenergic response to exercise in hypertensive patients // *Med. Sci. Monit.* – 2002. – V. 8. – P. 566–571.

Kamada N. The present state of atomic bomb survivors, with special reference to biological late-effects of radiation // *Rinsho Byori* – 2004. – V. 52, N. 3 - P. 217–222.

Kanda R. Improvement of accuracy of chromosome aberration analysis for biological radiation dosimetry // *J. Radiat. Res.* – 2000. – V. 41.– P. 1–8.

Karahalil B., Sardas S., Kocabas N.A., Alhayiroglu E., Karakaya A.E., Civelek E. Chromosomal aberrations under basal conditions and after treatment with X-ray in human lymphocytes as related to the GSTM1 genotype // *Mutat Res.* – 2002. – V. 515, N. 1–2 – P. 135–140.

Karg E., Klivenyi P., Nemeth I. et al. Nonenzymatic antioxidants of blood in multiple sclerosis // *J.Neurol.* – 1999. – V. 326. – P. 533–539.

Kiuru A., Auvinen A., Luokkamaki M., Makkonen K., Veidebaum T., Tekkel M., Rahu M., Hakulinen T., Servomaa K., Rytomaa T., Mustonen R. Hereditary minisatellite mutations among the offspring of Estonian Chernobyl cleanup workers // *Radiat Res.* – 2003 – V. 159. – P. 651–655.

Knudsen L.E., Loft S.H., Autrup H. Risk assessment: the importance of genetic polymorphisms in man // *Mutat Res.* – 2001. – N. 482. – P. 83–88.

Landi S., Ponzanelli I., Hirvonen A. et al. Repeated analysis of sister chromatid exchange induction by diepoxybutane in cultured human lymphocytes:

effect of glutathione-S-transferases T1 and M1 genotype // *Mutat Res.* – 1996. – N. 351. – P. 7–85.

Humma L.M., Terra S.G. Pharmacogenetics and cardiovascular disease: impact on drug response and applications to disease Management // *Am. J. Health-Syst. Pharm.* – 2002. – V. 59. – P. 1241–1252.

Larramendy M.L., Bianchi M.S., Padron J. Correlation between the anti-oxidant enzyme activities of blood fractions and the yield of bleomycin-induced chromosome damage // *Mutat Res.* - 1989. – V. 214, N. 1. – P. 129–136.

Lazutka J.R. Chromosome aberrations and rogue cells in lymphocytes of Chernobyl clean-up workers // *Mutat Res.* - 1996 – V. 350. – P. 315–329.

Lazutka J.R., Dedonyte V. Increased frequency of sister chromatid exchanges in lymphocytes of Chernobyl clean-up workers // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1995. – V. 67, N. 6. – P. 671–676.

Lindberg H.K., Falck G.C., Järventaus H., Norppa H. Characterization of chromosomes and chromosomal fragments in human lymphocyte micronuclei by telomeric and centromeric FISH // *Mutagenesis.* – 2008. – V. 23, N. 5. – P. 371–376.

Livshits L.A., Malyarchuk S.G., Kravchenko S.A., Matsuka G.H., Lukanova E.M., Antipkin Y.G., Arabskaya L.P., Petit E., Giraudeau F., Gourmelon P., Vergnaud G., Le Guen B. Children of chernobyl cleanup workers do not show elevated rates of mutations in minisatellite alleles // *Radiat Res.* – 2001. – V. 155. – P. 74–80.

Maffei F., Carbone F., Angelini S., Forti G.C., Norppa H., Hrelia P. Micronuclei frequency induced by bleomycin in human peripheral lymphocytes: correlating BLHX polymorphism with mutagen sensitivity // *Mutat Res.* – 2008. – V.639, N. 1–2. – P. 20–26.

Malo J., Lemièrre C., Gautrin D., Labrecque M. Occupational asthma // *Curr Opin Pulm.* – 2004. – V. 10, N. 1. – P. 57–61.

Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer // *Mutat Res.* – 2000. – . 462. – P. 247-53.

Moen B.E., Ovrebø S. Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons during firefighting by measurement of urinary 1-hydroxypyrene // *J. Occup Environ Med.* – 1997 – V. 39, N. 6. – P. 515–19.

Monteiro G.O., Oliveira N.G, Rodrigues A.S, Laires A, Ferreira T.C., Limbert E., Leonard A., Gerber G., Rueff J. Cytogenetic alterations and oxidative stress in thyroid cancer patients after iodine-131 therapy // *Mutagenesis.* - 2000. – V. 15, N. 1. – P. 69-75.

Nomura T. Transgenerational effects from exposure to environmental toxic substances // *Mutat Res.* – 2008. – V. 659, N. 1-2. – P. 185–193.

Norppa H., Bonassi S., Hansteen I.L., Hagmar L., Strömberg U., Rössner P., Boffetta P., Lindholm C., Gundy S., Lazutka J., Cebulska-Wasilewska A.,

Fabiánová E., Srám R.J., Knudsen L.E., Barale R., Fucic A. Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk // *Mutat Res.* – 2006. – V. 600, N. (1-2). – P. 37-45.

Norppa H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms // *Toxicol Lett.* – 2004. – V. 149. N. 1-3. – P. 309-334.

Norppa H. Cytogenetic biomarkers. // *IARC Sci Publ.* – 2004 – V. 157. – P. 179-205.

Obe G., Vogt H.-J., Madle S., Facning A., Heller W.D. Double blind study on the effect of cigarette smoking on the chromosomes of human peripheral blood lymphocytes in vivo // *Mutat Res.* – 1982. – V. 92. – P. 309-319.

Obe G., Herha J. Chromosomal aberrations in heavy smokers // *Hum. Genet.* – 1978. – V. 41. – P. 259–263.

Obe, G., L. Riedel, W-D. Heller, E. Sennewald, G. Scherer, and F. Aldkofer. Variability of chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes of smokers and nonsmokers. In *Chromosomal Alterations: Origin and Significance* (G. Obe and A. T. Natarajan, Eds.), pp. 307–318. Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, 1994.

Online Mendelian Inheritance in Man. – [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)

Ortiz-Lopez R., Li H., Su J., Goytia V., Towbin J.A. Evidence for a dystrophin missense mutation as a cause of X-linked dilated cardiomyopathy // *Circulation.* - 1997. – V. 95 – P. 2434-2440.

Oya Y., Yamamoto K., Tonomura A. The biological activity of hydrogen peroxide. I. Induction of chromosome-type aberrations susceptible to inhibition by scavengers of hydroxyl radicals in human embryonic fibroblasts // *Mutat Res.* – 1986.– V. 172, N. 3.– P. 245–253.

Oya Y., Takenaka A., Ochi T., Yamamoto K. The biological activity of hydrogen peroxide. V. The crystal structure of a histidine-peroxide adduct and its biological activities // *Mutat Res.*– 1992. – V. 266, N. 2. – P. 281-289.

Ozen M., Hopwood V.L., Jonston D.A., Babaian R.J., Logothetis C.J., von Eschenbach A.C., Pathak S. Aneuploidy index in blood: a potential marker for easy onset, androgen response, and metastasis in human prostate cancer // *Urology* - 1999. – V. 53, N. 2.–P. 381–385.

Pacchierotti F., Sgura A. Fluorescence in situ hybridization for the detection of chromosome aberrations and aneuploidy induced by environmental toxicants // *Methods Mol Biol.* – 2008. – V. 410. – P. 217–239.

Pascal M., Abdallhi O.M., Elvali N.E. et al. Hyaluronate level and markers of oxidative stress in the serum of Sudanese subjects at risk of infection with *Schistosoma mansoni* // *Trans.R.Soc.Trop. Med.Hyd.* - 2000. – V.94, N. 1. – P. 66-70.

Pavanello S., Clonfero E. Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms // *Mutat. Res.* – 2000. – N. 463. – P. 285–308.

Polonikov A.V., Solodilova M.A., Ivanov V.P. Genetic variation of myeloperoxidase gene contributes to atopic asthma susceptibility: a preliminary association study in Russian population // *J Asthma*. – 2009. – V. 46. N. 5. – P. 523-528.

Porta M., Crous-Bou M., Wark P.A., Vineis P., Real F.X., Malats N., Kampman E. Cigarette smoking and K-ras mutations in pancreas, lung and colorectal adenocarcinomas: Etiopathogenic similarities, differences and paradoxes // *Mutat Res*. – 2009. - V. 682. Issues 2-3. – P. 83 – 93.

Rees G.S., Trikić M.Z., Winther J.F., Tawn E.J., Stovall M., Olsen J.H., Rechnitzer C., Schröder H., Guldberg P., Boice J.D. A pilot study examining germline minisatellite mutations in the offspring of Danish childhood and adolescent cancer survivors treated with radiotherapy // *Int J Radiat Biol*. – 2006. – V. 82, N. 3. – P. 153–160.

Report of the UN Chernobyl Forum Expert Group "Health" (EGH) "Health Effects of the Chernobyl Accident and Special Health Care Programmes" Working Draft / Viena: World Health Organization, 2005. – 120p.

Roemer E., Ottmueller T.H., Zenzen V., Wittke S., Radtke F., Blanco I., Carchman R.A. Cytotoxicity, mutagenicity, and tumorigenicity of mainstream smoke from three reference cigarettes machine-smoked to the same yields of total particulate matter per cigarette // *Food Chem Toxicol*. – 2009. – V.47, N. 8. – P. 1810-1818.

Saadi A., Gao G., Li H., Wei C., Gong Y., Liu Q. Association study between vitamin D receptor gene polymorphisms and asthma in the Chinese Han population: a case-control study // *BMC Med Genet*. – 2009. –V. 10. – P. 71.

Sanjay Premi, Jyoti Srivastava, Sebastian Padinjarel Chandy, and Sher Ali Savóia EJ, Domingos M, Guimarães ET, Brumati F, Saldiva PH. Biomonitoring genotoxic risks under the urban weather conditions and polluted atmosphere in Santo André, SP, Brazil, through Trad-MCN bioassay // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2009. – V. 72, N. 1. – 255-260.

Shimanskaia E.I., Shkurat T.P., Medvedev L.G., Gus'kov E.P. Predicting the genome response of the somatic cells of divers to hyperoxic medium // *Fiziol Zh*. – 1991. – V. 37, N. 4. –P. 119-123.

Silva M.J., Dias A., Barreta A., Nogueira P.J., Castelo-Branco N.A., Boavida M.G. Low frequency noise and whole-body vibration cause increased levels of sister chromatid exchange in splenocytes of exposed mice. // *Teratog Carcinog Mutagen*. – 2002 – V. 22, N. 3. - P. 195-203.

Slebos R.J., Little R.E., Umbach D.M., Antipkin Y., Zadaorozhnaja T.D., Mendel N.A., Sommer C.A., Conway K., Parrish E., Gulino S., Taylor J.A. Mini-and microsatellite mutations in children from Chernobyl accident cleanup workers // *Mutat Res*. – 2004. – V. 559, N. 1-2. – P. 143-151.

Smerhovský Z., Landa K., Rossner P., Brabec M., Zudová Z., Hla N., Pokorná Z., Marečková J., Hurychová D. Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations. // *Environ Health Perspect.* – 2001. – V. 109, N. 1. – P. 41-45.

Srám R.J., Binková B. Molecular Epidemiology Studies on Occupational and Environmental Exposure to Mutagens and Carcinogens, 1997-1999 // *Health Perspect* – 2000. – V. 108, suppl. 1. – P. 57-70.

Sram R.J. Effect of glutathione S-transferase M1 polymorphisms on biomarkers of exposure and effects // *Environ Health Perspect.* – 1998. – V. 106, suppl. 1. – P. 231-239.

Srivastava J, Chandy SP, Ali S. Unique Signatures of Natural Background Radiation on Human Y Chromosomes from Kerala, India // *PLoS ONE.* – 2009. – V. 4, N. 2. – P. 4541.

Stefanidou M., Athanaselis S. Toxicological aspects of fire // *Vet. Hum. Toxicol.* – 2004. – N. 4. – P. 196-199.

Sugisawa A., Umegaki K. Detection of oxidant-induced slight chromosomal damage in cells by subsequent exposure to X-rays // *Biol Pharm Bull.* - 2002. – V. 25, N. 6. – P. 803-805.

Tawn E.J. The frequency of chromosome aberrations in a control population. // *Mutat Res.* – 1987. – V. 182. – P. 303-308.

Télez M., Martínez B., Criado B., Lostao C.M., Penagarikano O., Ortega B., Flores P., Ortiz-Lastra E., Alonso R.M., Jiménez R.M., Arrieta I. In vitro and in vivo evaluation of the antihypertensive drug atenolol in cultured human lymphocytes: effects of long-term therapy // *Mutagenesis* – 2000. – V. 15, N. 3. – P. 195-202.

Tuimala J., Szekely G., Gundy S., Hirvonen A., Norppa H. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity // *Carcinogenesis.* – 2002. – V. 23, N. 6. – P. 1003-1008.

Tuimala J., Szekely G., Wikman H. et al. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: effects on levels of sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations // *Mutat Res.* – 2004. – N. 554. – P. 319-333.

Uggla A.H. The induction of chromosomal aberrations and SCEs by visible light in combination with dyes. II. Cell cycle dependence, and the effect of hydroxyl radical scavengers during light exposure in cultures of Chinese hamster ovary cells sensitized with acridine orange // *Mutat Res.* - 1990. - V. 231, N. 2. - P. 233-242.

Umegaki K., Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay in WIL2-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils // *Mutagenesis.* - 2000. - V. 15, N. 3. - P. 261-269.

Vinceti M., Malagoli C., Fabbi S., Teggi S., Rodolfi R., Garavelli L., Astolfi G., Rivieri F. Risk of congenital anomalies around a municipal solid waste incinerator: a GIS-based case - control study // *Int J Health Geogr* – 2009. - Feb 10;8:8.

Weinberg H.S., Korol A.B., Kirzhner V.M., Avivi A., Fahima T., Nevo E., Shapiro S., Rennert G., Piatak O., Stepanova E.I., Skvarkaja E. Very high mutation rate in offspring of Chernobyl accident liquidators // *Proc Biol Sci* – 2001. – V. 268, N. 1471. – P. 1001-1005.

Wiencke J.K., Pemble S., Ketterer B. et al. Gene deletion of glutathione S-transferase theta: correlation with induced genetic damage and potential role in endogenous mutagenesis // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 1995. – N. 3. – P. 253-259.

Woods D.R., World M., Rayson M.P., Williams A.G., Jubb M., Jamshidi Y., Hayward M., Mary D.A., Humphries S.E., Montgomery H.E. Endurance enhancement related to the human angiotensin I-converting enzyme I-D polymorphism is not due to differences in the cardiorespiratory response to training // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2002. –V. 86. – P. 240-244.

Wu F.Y., Tsai F.J., Kuo H.W. et al. Cytogenetic study of workers exposed to chromium compounds // *Mutat Res.* – 2000. – V. 464. – P. 289-296.

Zambon P., Ricci P., Bovo E., Casula A., Gattolin M., Fiore A.R., Chiosi F., Guzzinati S. Sarcoma risk and dioxin emissions from incinerators and industrial plants: a population- based case-control study (Italy). // *Environ Health.* – 2007. – Jul 16; 6:19.