

ЧАСТОТА АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНИМ ТИРЕОЇДИТОМ, НАРОДЖЕНИХ ДО ТА ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧАЕС



З використанням диференційного G-зabarвлення хромосом проведено цитогенетичне обстеження хворих на хронічний тиреоїдит дітей, які народились до та після аварії на ЧАЕС. Встановлено, що опромінення ¹³¹I у дитячому віці в умовах йодного дефіциту сприяло збільшенню нестабільності геному обстежених осіб, підвищенню його чутливості до дії радіоіотопів цезію та реалізації патологічного процесу в щитовидній залозі.

© О.В. ШЕМЕТУН, О.О. ТАЛАН, М.А. ПІЛІНСЬКА, 2004

Вступ. Після аварії на Чорнобильській АЕС в Україні відзначено зростання частоти стохастичних і нестохастичних ефектів опромінення щитовидної залози серед дитячого населення, яке у ранньому дитинстві зазнало впливу радіоактивного йоду [1, 2]. Дані про цитогенетичні обстеження осіб з тиреоїдною патологією є нечисленними і головним чином стосуються досліджень тканин доброякісних і злоякісних пухлин щитовидної залози [3–6]. Хворі на гострий і хронічний тиреоїдит та гіпотиреоз, які є головними нестохастичними ефектами опромінення щитовидної залози [7], практично не потрапляли до поля зору цитогенетиків. З метою оцінки нестабільності геному у осіб з такою патологією може бути використаний цитогенетичний аналіз лімфоцитів периферичної крові як універсальних індикаторних клітин для виявлення мутагенної дії на хромосомний апарат людини [8]. Отримані результати будуть сприяти розкриттю генетичних механізмів виникнення патологічного процесу в щитовидній залозі після опромінення ¹³¹I внаслідок Чорнобильської катастрофи.

У зв'язку з зазначеним метою нашого дослідження було встановлення ролі опромінення радіоактивним йодом внаслідок аварії на ЧАЕС в дестабілізації геному та розвитку тиреоїдної патології у дітей.

Матеріал і методи. При виконанні роботи обстежено 28 осіб 15–18 років, які у ранньому дитинстві зазнали впливу радіоактивного йоду внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС і постійно проживали у с. Старе Рівненської області (в умовах йодного дефіциту і забруднення ґрунтів радіоізотопами цезію) та 33 особи з цього ж населеного пункту віком від 12 до 15 років, зачаття яких відбулося після повного розпаду радіонуклідів йоду в навколишньому середовищі. Робота виконувалась у співробітництві з відділом дитячої ендокринології НЦРМ АМН України, де були сформовані групи дітей для проведення цитогенетичного аналізу з урахуванням морфо-функціонального стану їх тиреоїдної системи: з патологією щитовидної залози, ризиком її виникнення та групи порівняння. Обсяг проведених досліджень наведено в табл. 1.

Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові, що культивувались за загальноприйнятим напівмікрометодом [9].

Роботу виконували з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом згідно з методом Seabright [10].

Хромосомний аналіз проводили на зашифрованих препаратах під мікроскопами Axio-plan, Axio-lab (Німеччина). Реєстрували всі аберації хроматидного (хроматидні делеції, обміни) і хромосомного (дицентричні й кільцеві хромосоми, транслокації, пара- та перичентричні інверсії, інсерції, термінальні та інтерстиціальні

делеції) типів. Під час аналізу фіксували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з Міжнародною номенклатурою ISCN-1995 [11]. Оцінку пошкоджуваності іонізуючим випромінюванням окремих хромосом проводили з використанням стандартних параметрів геному людини [12]. Отримані дані опрацьовані за допомогою статистичних методів: кореляційного аналізу, порівняння середніх величин за Стьюдентом та Ван дер Варденом.

Результати досліджень та їх обговорення. Цитогенетичне дослідження показало, що середньогрупова частота аберантних клітин (2,7 %) і рівень аберацій хромосом ($2,83 \pm 0,60$ на 100 метафаз) у підлітків без патології щитовидної залози, які у ранньому дитинстві зазнали дії радіоактивного йоду, статистично не відрізнялись від цих показників у дітей з групи порівняння, народжених після аварії на ЧАЕС ($p > 0,05$) (табл. 2). Отримані нами дані щодо рівня аберацій хромосом в контролі в цілому узгоджуються з результатами досліджень Степанової та ін. [13], де у дітей контрольної групи з іншого регіону України (1986 р.н.) він становив $2,71 \pm 0,61$ на 100 клітин.

У групі ризику розвитку тиреоїдної патології, яка зазнала дії факторів Чорнобильської катастрофи, спостерігали підвищення частоти аберантних клітин та рівня аберацій хромосом до $4,28 \%$ та $4,38 \pm 0,65$ на 100 метафаз відповідно. У хворих на хронічний тиреоїдит, народжених до аварії на ЧАЕС, зафіксовано подальше зростання хромосомної нестабільності, внаслідок чого середньогрупова частота аберантних клітин ($5,31 \%$) та рівень аберацій хромосом ($5,56 \pm 0,80$ на 100 метафаз) були вищими за аналогічні показники у здорових осіб відповідного віку ($p < 0,05$) та у дітей з патологією щитовидної залози, які не зазнали впливу радіоактивного йоду ($p < 0,05$).

В усіх групах спостерігався значний розмах індивідуальних коливань частоти аберацій хромосом.

Аберації хроматидного типу виявлені у 70 % дітей з патологією щитовидної залози. У осіб з хронічним тиреоїдитом, які народились після повного розпаду радіоактивного йоду, рівень аберацій хроматидного типу ($1,36 \pm 0,41$) мав тенденцію до зниження порівняно з даними, отриманими при обстеженні хворих дітей, на-

Таблиця 1
Обсяг цитогенетичних досліджень при обстеженні дітей с. Старе Рівненської області (диференційне G-забарвлення хромосом)

Обстежені групи	Діти, які зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС		Діти, які не зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС	
	Обстежено осіб	Проаналізовано метафаз	Обстежено осіб	Проаналізовано метафаз
Хронічний тиреоїдит	9	810	10	810
Група ризику	10	1005	11	983
Група порівняння	9	777	12	1150
Всього	28	2592	33	2943

Таблиця 2
Частота аберантних клітин та рівень аберацій хромосом у обстежених дітей (диференційне G-забарвлення хромосом)

Обстежені групи	Середньогрупова частота аберантних клітин, %	Рівень аберацій хромосом, на 100 клітин	
		Середньогруповий	Розмах індивідуальних коливань
Порівняння			
1	$2,00 \pm 0,41$	$2,00 \pm 0,41$	1,00 – 4,00
2	$2,70 \pm 0,58$	$2,83 \pm 0,60$	1,79 – 4,00
Ризик розвитку тиреоїдної патології			
1	$2,65 \pm 0,51$	$2,75 \pm 0,52$	1,00 – 5,46
2	$4,28 \pm 0,64$	$4,38 \pm 0,65$	1,00 – 7,00
Хронічний тиреоїдит			
1	$3,33 \pm 0,63$	$3,58 \pm 0,65$	1,00 – 9,09
2	$5,31 \pm 0,78$	$5,56 \pm 0,80$	1,00 – 11,00

Примітка. 1 — діти, які не зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС. 2 — діти, які зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС.

роджених до Чорнобильської катастрофи ($1,73 \pm 0,46$ на 100 клітин) (табл. 3).

Частоти та спектр зареєстрованих при цитогенетичному обстеженні аберацій хромосомного типу наведено в табл. 4. Вони були представлені термінальними та інтерстиціальними делеціями, транслокаціями, інверсіями, дицентричними та кільцевими хромосомами.

У дітей без патології щитовидної залози переважну більшість аберацій хромосомного типу складали делеції. Їх рівні практично не відрізнялись в обох групах порівняння ($p > 0,05$) та перевищували популяційну частоту таких пошкоджень у осіб відповідного віку. Це свідчить про радіоіндуковану хромосомну нестабільність у обстежених дітей і може бути результатом проживання на забрудненій радіоцезієм місцевості, оскільки хромосомні делеції рекомендовано вважати за специфічний індикатор мутагенної дії опромінення людини [14].

У групах ризику розвитку тиреоїдної патології та з її маніфестацією, які зазнали дії радіоактивного йоду, зареєстровано тенденцію до підвищення рівня делецій порівняно з даними, отриманими при обстеженні дітей, народжених після Чорнобильської катастрофи, що може бути наслідком адитивної дії гормонального дисбалансу та радіоіндукованої нестабільності хромосом.

Нестабільні маркери радіаційного опромінення, які були представлені дицентричними та кільцевими хромосомами, зустрічались

в усіх обстежених групах з популяційною частотою.

Частота стабільних маркерів опромінення у дітей без патології щитовидної залози ($0,17 \pm 0,12$ і $0,13 \pm 0,13$ на 100 метафаз у народжених до та після аварії) відповідала рівню цих пошкоджень у дітей контрольної групи в дослідженні Хандогіної зі співат. [15] ($1,1 \pm 0,4$ на 1000 клітин), виконаному з використанням флуоресцентної *in situ* гібридизації хромосом.

У осіб з ризиком розвитку тиреоїдної патології рівень симетричних хромосомних обмінів мав тенденцію до підвищення.

У хворих на хронічний тиреоїдит, які у ранньому дитинстві зазнали дії радіоактивного йоду, сумарна частота транслокацій і інверсій становила $1,36 \pm 0,41$ на 100 метафаз і на порядок перевищувала рівень цих пошкоджень у групі порівняння ($p < 0,01$). Беручи до уваги,

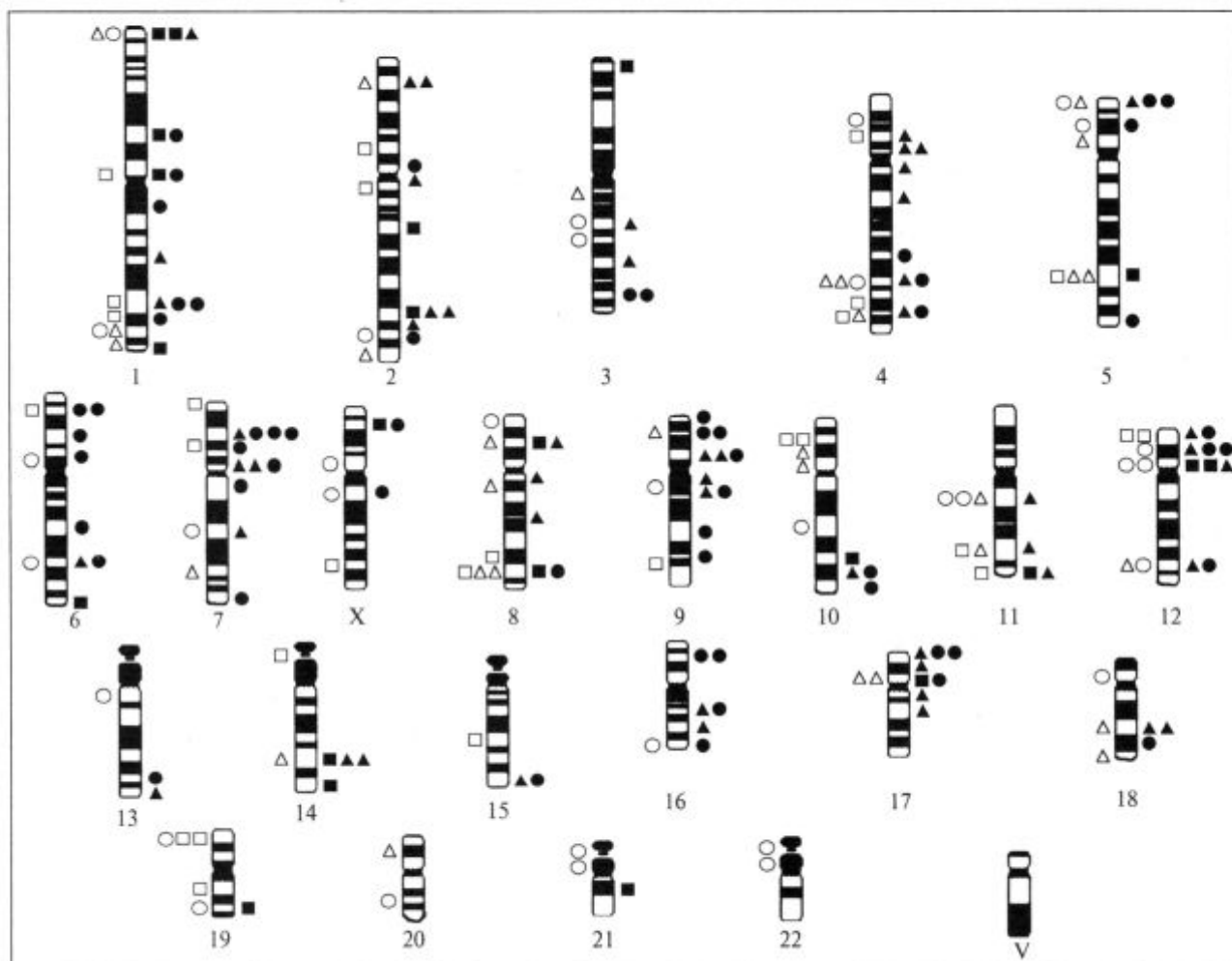
Таблиця 3
Частота аберацій хроматидного типу у дітей
с. Старе Рівненської області
(диференційне G-зabarвлення хромосом)

Обстежені групи	Частота аберацій хроматидного типу, внаслідок аварії на ЧАЕС, на 100 клітин	
	Не зазнали дії радіоактивного йоду	Зазнали дії радіоактивного йоду
Порівняння	$0,70 \pm 0,25$	$1,29 \pm 0,40$
Ризик розвитку тиреоїдної патології	$1,02 \pm 0,32$	$1,79 \pm 0,42$
Хронічний тиреоїдит	$1,36 \pm 0,41$	$1,73 \pm 0,46$

Таблиця 4
Частота аберацій хромосомного типу у обстежених дітей (диференційне G-зabarвлення хромосом)

Обстежені групи	Частота аберацій хромосомного типу, на 100 клітин			
	Делятовані хромосоми	Транслокації та інверсії	Дицентричні і кільцеві хромосоми	Всього
Порівняння				
1	$1,04 \pm 0,30$	$0,17 \pm 0,12$	$0,09 \pm 0,09$	$1,30 \pm 0,33$
2	$1,16 \pm 0,38$	$0,13 \pm 0,13$	$0,25 \pm 0,17$	$1,54 \pm 0,44$
Ризик розвитку тиреоїдної патології				
1	$1,32 \pm 0,36$	$0,31 \pm 0,18$	$0,10 \pm 0,10$	$1,73 \pm 0,42$
2	$1,89 \pm 0,43$	$0,70 \pm 0,26$	$0,00 \pm 0,00$	$2,59 \pm 0,50$
Хронічний тиреоїдит				
1	$1,73 \pm 0,46$	$0,24 \pm 0,17$	$0,25 \pm 0,17$	$2,22 \pm 0,52$
2	$2,35 \pm 0,53$	$1,36 \pm 0,41$	$0,12 \pm 0,12$	$3,83 \pm 0,67$

Примітка. 1 — діти, які не зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС, 2 — діти, які зазнали дії радіоактивного йоду внаслідок аварії на ЧАЕС.



Розподіл зареєстрованих розривів серед хромосом в обстежених групах:

- група порівняння (діти, народжені після аварії на ЧАЕС);
- △ група ризику розвитку тиреоїдної патології (діти, народжені після аварії на ЧАЕС);
- група з хронічним тиреоїдитом (діти, народжені після аварії на ЧАЕС);
- група порівняння (діти, народжені до аварії на ЧАЕС);
- ▲ група ризику розвитку тиреоїдної патології (діти, народжені до аварії на ЧАЕС);
- група з хронічним тиреоїдитом (діти, народжені до аварії на ЧАЕС)

що у дітей з патологією щитовидної залози, народжених після Чорнобильської катастрофи, частота симетричних хромосомних обмінів ($0,24 \pm 0,17$ на 100 метафаз) статистично не відрізнялась від показників групи контролю відповідного віку ($p > 0,05$), можна припустити, що дія радіоактивного йоду у ранньому дитячому віці на фоні йодної ендемії сприяла збільшенню нестабільності геному обстежених осіб, підвищенню його чутливості до дії радіоіотопів цезію та реалізації патологічного процесу в щитовидній залозі. У більш загальному вигляді

на цитогенетичному рівні це відобразилось у зростанні частоти аберацій хромосомного типу ($p < 0,05$) та середньогрупових рівней аберацій хромосом і аберантних клітин ($p < 0,05$) у осіб з патологією щитовидної залози, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, порівняно з результатами, отриманими при обстеженні хворих на тиреоїдит, які не зазнали дії радіоактивного йоду.

Враховуючи відсутність різниці в цитогенетичних показниках між групами без тиреоїдної патології, народженими до та після Чорно-

бильської катастрофи, можна вважати, що вплив опромінення радіоактивним йодом залежав від індивідуальної чутливості організму, стану щитовидної залози, особливостей поведінки та харчування в період аварії.

Використання диференційного G-зabarвлення дозволило ідентифікувати місця розривів при утворенні аберацій хромосом. У всіх обстежених групах переважна більшість пошкоджень зареєстрована в еухроматинових районах хромосом (рисунок). Отримані дані узгоджуються з результатами наших попередніх досліджень, де показано, що еухроматинові райони частіше пошкоджуються як в неопроміненому організмі, так і під час дії радіації [16].

Аналіз розподілу розривів в каріотипі засвідчив, що хромосоми пошкоджувались відповідно з їх довжиною, що підтверджено результатами кореляційного аналізу, який показав існування прямого, сильного, достовірного зв'язку між частотою пошкоджень хромосом та їх довжиною ($R_{xy} > 0,7$ у всіх обстежених групах).

Більшість розривів локалізувались в місцях підвищеної ламкості хромосом та бендах, які частіше вражаються при дії іонізуючого випромінювання (1q32; 2q33; 4q31; 5p15; 5q31; 7p15; 12q24; 14q24 та ін.) [16], що може бути наслідком проживання на забрудненій радіоцезієм території. Підвищеної концентрації розривів в бендах, які пошкоджуються при розвитку пухлин щитовидної залози [4], не зареєстровано.

Висновки. Під час цитогенетичного обстеження дітей з хронічним тиреоїдитом та ризиком його розвитку, які мешкають на ендемічній по йоду і забрудненій радіоізотопами цезію території (у с. Старому Рівненській області), встановлено, що опромінення ^{131}I у ранньому дитячому віці в умовах йодного дефіциту сприяло збільшенню нестабільності геному обстежених осіб, підвищенню його чутливості до дії радіоіотопів цезію та реалізації патологічного процесу в щитовидній залозі. Вплив опромінення радіоактивним йодом залежав від індивідуальної чутливості організму, стану щитовидної залози, особливостей поведінки та харчування в період аварії. У підлітків з груп порівняння виявлено хромосомну нестабільність, що, можливо, є наслідком проживання в умовах дефіциту йоду та (чи) забруднення ґрунтів цезієм. Тому

в наступному планується визначення ролі цих чинників у дестабілізації геному та можливий модифікації патологічного процесу в щитовидній залозі.

Автори висловлюють щире подяку завідуючій відділенням дитячої ендокринології НЦРМ АМН України О.Я. Боярській та провідному науковому співробітнику О.В. Копиловій за формування груп для цитогенетичного обстеження.

SUMMARY. Children with chronic thyroiditis born before and after Chernobyl accident have been investigated cytogenetically using G-banding staining. It was shown that the chromosome instability and sensitivity to cesium radioisotopes increased and the pathological process in a thyroid gland implemented in persons exposed to ^{131}I in their childhood and living in iodine-deficient territories.

РЕЗЮМЕ. С использованием дифференциального G-окрашивания хромосом проведено цитогенетическое обследование детей с хроническим тиреоидитом, рожденных до и после аварии на ЧАЭС. Установлено, что облучение ^{131}I в детском возрасте в условиях йодного дефицита способствовало повышению нестабильности генома обследованных лиц, повышению его чувствительности к действию радиоизотопов цезия и реализации патологического процесса в щитовидной железе.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Exposures and effects of Chernobyl accident: UNSCEAR 2000 report to the General Assembly / United Nations Scientific Committee on the effects of atomic radiation // Int. J. of Radiat. Med. — 2000. — 3/4 (special issue). — 109 p.*
2. *Боярская О.Я., Копылова О.В., Афанасьев Д.Е. Тиреоидная система и сомато-половое развитие детей, пострадавших вследствие аварии на ЧАЭС // Международный журн. радиац. медицины. — 2001. — 3, № 1/2. — С. 167–168.*
3. *Lenmann L., Zitzelsberger H., Kellerer A. et al. Chromosome translocations in thyroid tissues from Belarusian children exposed to radioiodine from the Chernobyl accident, measured by FISH-painting // Radiat. Biol. — 1996. — 70, № 5. — P. 513–516.*
4. *Zitzelsberger H., Smida J., Salassidis K., Heiber L., Bauchinger M. Molecular cytogenetic studies on childhood thyroid tumours from Belarus // International J. Radiat. Med. — 1999. — 3/4. — P. 17–20.*
5. *Полонецкая С.Н., Чакова Н.Н., Демидчик Ю.Е., Михалевич Л.С. Цитогенетические эффекты ионизирующих излучений в нормальных и опухолевых клетках щитовидной железы in vivo // Международный журн. радиац. медицины. — 2001. — 3, № 1/2 — С. 274.*

6. Herrman M., Gipson C. Cytogenetic analysis of thyroid tumors after cryopreservation // *Cancer Genet. Cytogenet.* — 1995. — **85**. — P. 20–25.
7. Чебан А.К. Нестохастические тиреоидные эффекты Чернобыльской катастрофы // *Международ. журн. радиац. медицины.* — 1999. — **3/4**. — С. 76–94.
8. Мельнов С.Б., Рыбальченко О.А. Динамическое исследование частоты хромосомных aberrаций и aberrантных клеток у пациентов с патологией щитовидной железы // *Международ. журн. радиац. медицины.* — 2001. — **3**, № 1/2. — С. 238.
9. Hungerford D.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCL // *Stain Techn.* — 1965. — **10**. — P. 333–338.
10. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // *Lancet.* — 1971. — **2**. — P. 971–972.
11. *An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (1995)* / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. — Basel : Karger, 1995. — P. 5–21.
12. Morton N.E. Parameters of the human genome // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1991. — **88**. — P. 7474–7476.
13. Степанова Е.И., Мишарина Ж.А. Цитогенетические эффекты в лимфоцитах периферической крови детей в отдаленный период после пренатального облучения // *Международ. журн. радиац. медицины.* — 2001. — **3**, № 3/4. — С. 118–122.
14. *Hereditary effects of radiation.* United Nations Scientific Committee on the effects of atomic radiation. UNSCEAR report to the General Assembly. United Nations. — New York, 2001. — P. 74–77.
15. Хандогина Е.К., Агейкин В.А., Зверева С.В. и др. Цитогенетическое обследование различных групп детей, проживающих в районах Брянской области, загрязненных в результате Чернобыльской аварии // *Радиационная биология. Радиоэкология.* — 1995. — **35**, № 5. — С. 618–625.
16. Шеметун О.В., Пілінська М.А., Шеметун Г.М. Розподіл радіаційно індукованих розривів у хромосомах опромінених осіб // *Цитология и генетика.* — 2000. — **34**, № 4. — С. 10–15.

Надійшла 19.05.03