

# Радиационно-индуцированные абerrации хромосом

*Доцент кафедры экологической медицины  
МГЭИ им. Сахарова БГУ к.б.н. Николаевич Л.Н.*

# Введение

Одним из наиболее чувствительных радиобиологических способов определения изменений, происходящих в организме при его облучении, является цитогенетический метод, основанный на учете специфических хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови человека. Этот метод применяют в двух аспектах: для индикации степени радиационного повреждения организма и расчета поглощенной дозы по цитогенетическим маркерам (aberrации хромосомного типа).

К хромосомным aberrациям, являющимся маркерами радиационного воздействия, относят дицентрические и кольцевые хромосомы — aberrации нестабильного типа, а также транслокации и инверсии — стабильные хромосомные перестройки. Первые — приводят к потере генетического материала, поэтому в результате гибели генетически не сбалансированных клеток число этих aberrаций со временем снижается. Вторые, не нарушая существенно генетического баланса клеток, сохраняются в процессе пролиферации, и частота их мало меняется со временем облучения.

Анализ aberrаций хромосом оказывается наиболее эффективным в случаях относительного равномерного облучения людей. Об этом свидетельствует хорошее соответствие между оценками дозы, полученными цитогенетическими, физическими и гематологическими методами.

При неравномерном воздействии средняя частота, например, дицентриков, отражает дозу, усредненную по всему телу, и является малоинформативной. Кроме того, признаками равномерности облучения организма могут служить такие критерии как: соответствие распределения дицентриков по клеткам (*in vitro*) теоретическому распределению Пуассона и отсутствие существенных различий по разным цитогенетическим показателям: средней частоте дицентриков (на 100 проанализированных клеток), проценту клеток с дицентриками и частоте дицентриков (на 1 клетку с дицентриками).

Для биодозиметрических исследований используют различные цитогенетические методы: рутинный цитогенетический анализ, микроядерный тест, метод FISH, метод дифференциальной окраски хромосом и др.

# 1. ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ

Все хромосомные aberrации, возникающие в соматических клетках человека и регистрируемые на стадии метафазы, разделяются на две основные группы: aberrации хромосомного типа и aberrации хроматидного типа (рис. 1).

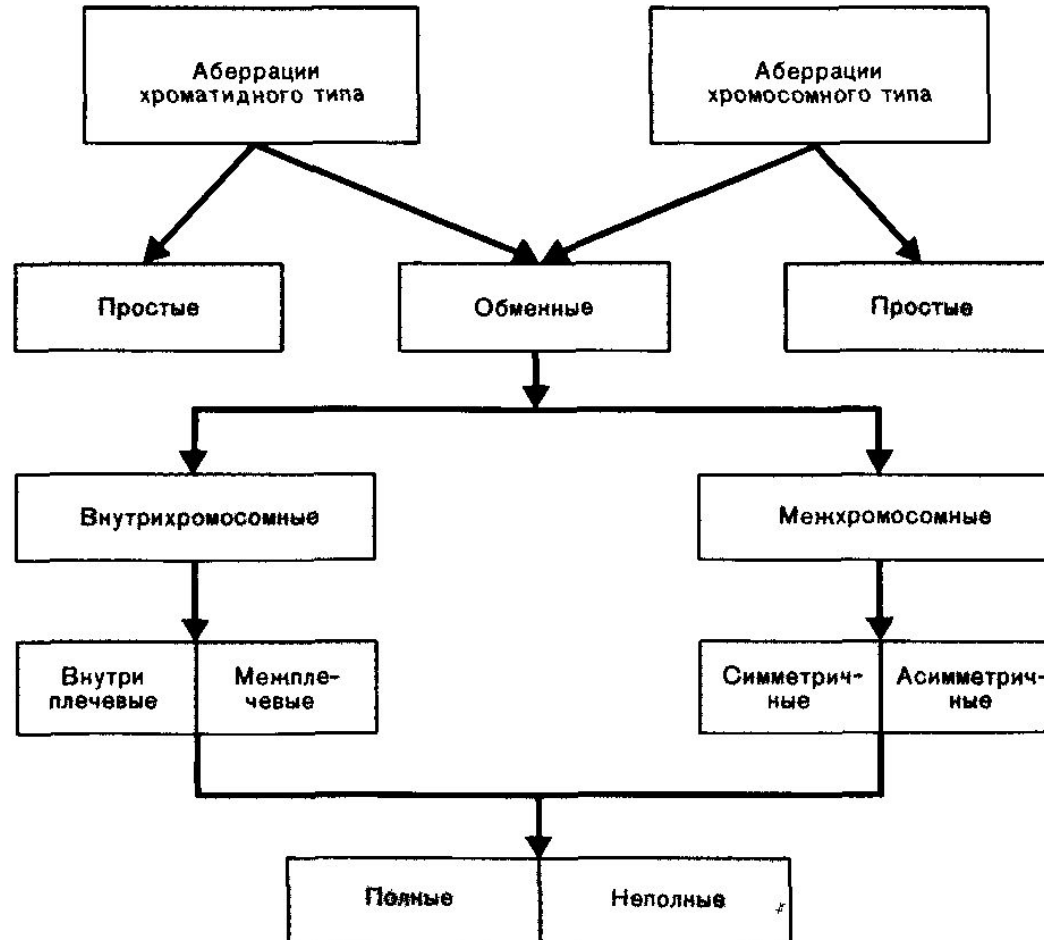


Рис. 1 Общая классификация aberrаций хромосом

Отнесение той или иной аберрации к хромосомному или хроматидному типу зависит от того, на каком уровне (хромосомы или хроматиды) повреждена хромосома, вовлеченная в перестройку.

Аберрации хромосомного типа отражают повреждение хромосомы на пресинтетической стадии ( $G_1$ -фаза) интерфазы клеточного цикла, когда хромосома реагирует как одностреччатая структура. Аберрации хроматидного типа возникают при повреждении хромосомы на стадии ее двух нитей в фазе S и  $G_2$ .

Нередко при действии мутагенов на стадии, когда хромосома представлена двумя нитями, появляются аберрации хромосомного типа, отражающие повреждения в идентичных локусах обеих хроматид хромосомы. В таких случаях говорят об изохроматидных разрывах или аберрациях. По своему происхождению они являются хроматидными аберрациями, морфологически не отличимыми от аберраций хромосомного типа.

Среди аберраций обоих типов различают простые и обменные аберрации. В основе тех и других лежат повреждения одной или несколько хромосом, приводящие либо к нарушению целостности и непрерывности тела хромосомы с образованием свободных или связанных с ней фрагментов.

Простые представляют делецию, которая ведет к формированию ацентрического фрагмента. Фрагменты классифицируются как отдельный тип аберраций (класс простые) только в тех случаях, когда они не связаны с обменов. В зависимости от того, произошел ли разрыв в одной хроматиде или в идентичных локусах обеих хроматид, различают фрагменты одиночные (хроматидные) и парные (изохроматидные).

Обменные аберрации разнообразны и представляют собой новую перегруппировку, возникающую после воссоединения концов, образовавшихся после разрыва.

## **Обмены классифицируются по нескольким принципам:**

— в зависимости от того, произошел ли обмен внутри одной хромосомы или между несколькими хромосомами, они делятся на внутрихромосомные и межхромосомные.

— по направлению соединения концов обменявшихся участков обмены подразделяются на симметричные и асимметричные. Если ацентрические фрагменты одной хромосомы соединяются с центрическими концами другой поврежденной, то такие обмены называются симметричными. Если же ацентрические фрагменты одной поврежденной хромосомы соединяются с ацентрическими фрагментами другой хромосомы, а центрические концы обеих поврежденных хромосом обмениваются между собой, то обмены в таких случаях называются асимметричными.

— вследствие того, произошел ли обмен внутри одного плеча хромосомы, или между различными плечами, различают внутриплечевые и межплечевые обмены.

— обмены, при которых происходит воссоединение всех перекомбинирующихся участков, называются полными, а при которых воссоединяются не все участки поврежденных хромосом — неполными.

## **1. 1. Аберрации хромосомного типа**

Среди аберраций хромосомного типа выделяют простые (парные фрагменты) и обмены.

Обмены встречаются внутрихромосомные и межхромосомные.

### ***Парные фрагменты***

Парные фрагменты — это ацентрические образования, представляющие собой спаренные участки двух хроматид, располагающиеся параллельно друг другу за счет взаимного притяжения (рис. 1.1).

Размеры их могут варьировать от очень маленьких, до очень длинных палочкообразных структур. Они представляют собой концевые делеции хромосом, хотя не исключены случаи парных фрагментов в результате интерстициальных делеций. Идентификация последних возможна только на основе применения методов дифференциальной окраски хромосом.

Парные фрагменты практически никогда не лежат рядом с хромосомой от которой они отошли, так как обработка клеток гипотоническим раствором и последующие технические процедуры при приготовлении хромосомных препаратов действуют на них как на самостоятельные единицы. На основании этого их легко дифференцировать от изохроматидных пробелов. Парные фрагменты, лежащие рядом с поврежденной хромосомой всегда смещены по ее длине. Различны и механизмы образования парных фрагментов и изохроматидных пробелов. Парные фрагменты считают результатом повреждения хромосом на стадии ее одной нити и их становление связано с репликацией хромосомы, изохроматидные — результат повреждений в обеих хроматидах в точках, лежащих на одинаковом расстоянии от центромеры.

Очень длинные фрагменты, образующиеся в результате соединения ацентрических участков двух хромосом, необходимо относить к обменам.

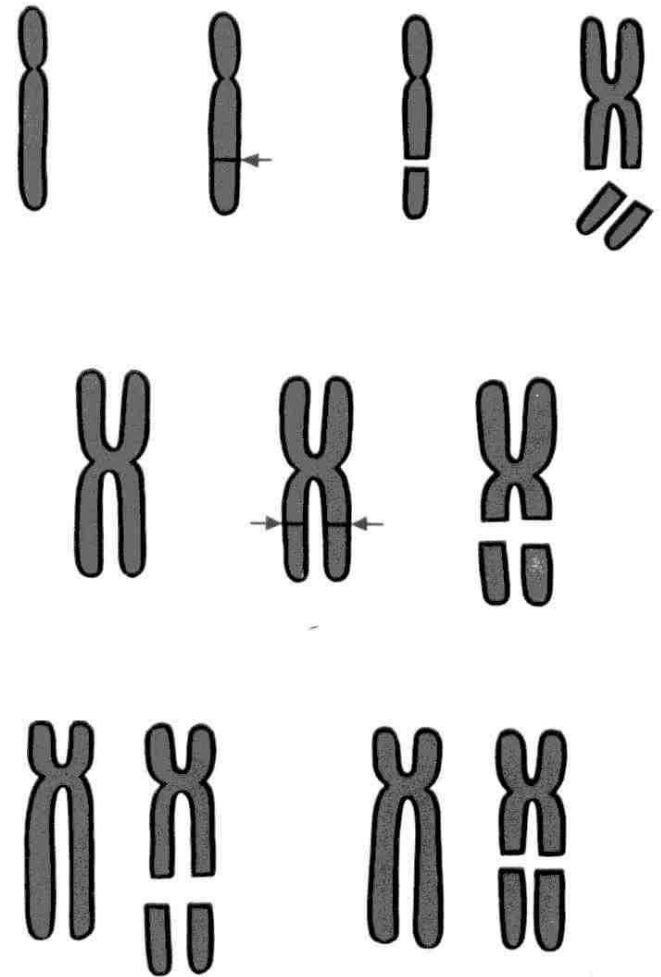


Рис. 1.1 Происхождение парных и изохроматидных фрагментов и отличие парных фрагментов от изохроматидных пробелов.

## Внутрихромосомные обмены

Внутрихромосомные обмены могут быть как внутриплечевыми, так и межплечевыми.

К внутрихромосомным внутриплечевым обменам относятся ацентрические кольца, а к внутрихромосомным межплечевым — кольцевые хромосомы, парацентрические и перичентрические инверсии.

**Ацентрические кольца.** Эти структуры представляют собой спаренные участки хроматид в форме кольца, не содержащих центромер (рис. 1.2).

Их относят к внутриплечевым обменам, возникающим в результате интерстициальной делеции, т. е. «вырезания» участка хромосомы внутри плеча с последующим соединением между собой концов интерстициального фрагмента. Вследствие взаимного притяжения сестринских хроматид оба кольца лежат рядом, чаще всего с наложением одного на другое, создавая впечатление единой структуры, имеющей вид восьмерки. Иногда кольца располагаются боком в виде овальных образований с просветом или без него. В этом случае они выглядят утолщенными по сравнению с поперечником хроматиды, округленными палочкообразными структурами.

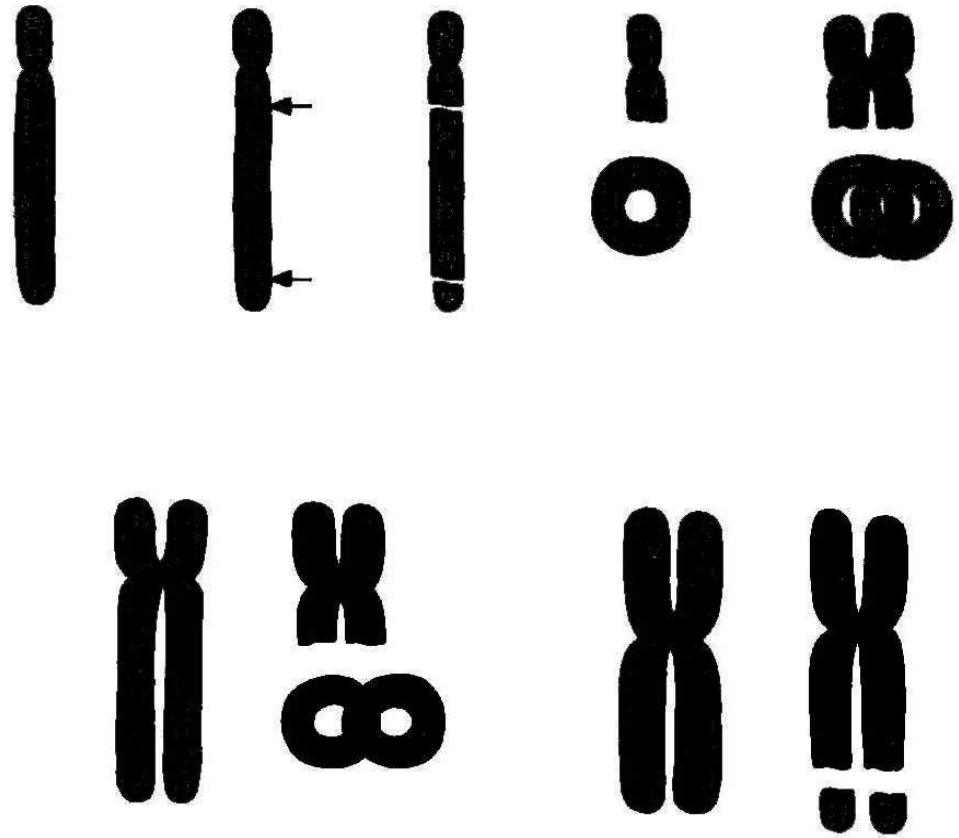


Рис. 1.2. Происхождение ацентрических колец (вверху); сравнение конфигурации ацентрических колец с просветом и без просвета (внизу).



Точечные ацентрические кольца трудно отдифференцировать от парных фрагментов небольших размеров. Их следует относить к ацентрическим кольцам если их диаметр составляет больше поперечника хроматиды и к парным фрагментам – если диаметр их близок или равен поперечнику хроматиды.

### **Кольцевые хромосомы (центрические кольца).**

*Кольцевые моноцентрические хромосомы* относятся к межплечевым обменам. Эти aberrации представляют собой замкнутые структуры с обязательным наличием в каждой из них центromеры (рис. 1.3.).

В основе механизма их образования лежит повреждение обоих плеч хромосомы, в результате чего свободные концы центрического фрагмента соединяются между собой.

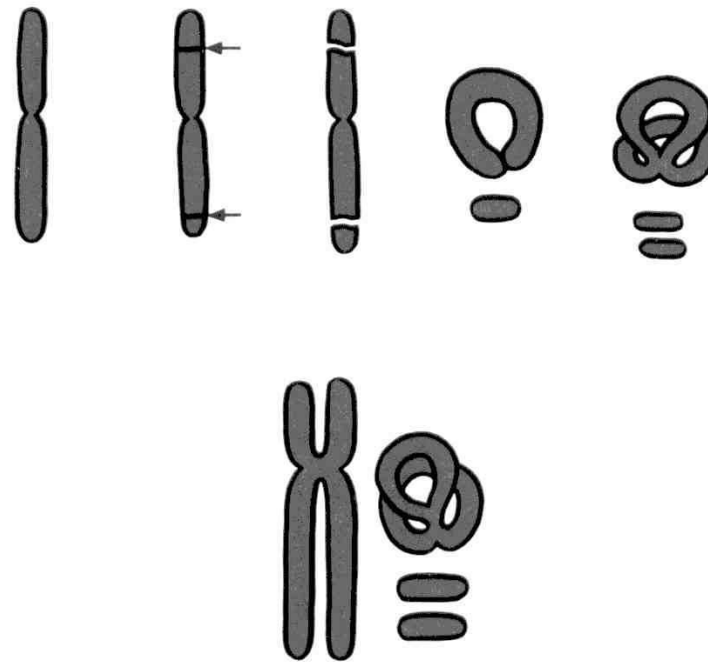


Рис. 1.3. Происхождение кольцевой хромосомы и сопоставление гомологичных хромосом.

Они отличаются от ацентрических колец по наличию центromеры и парных фрагментов, как правило сопровождающих кольцевую хромосому. По числу парных фрагментов на одно центрическое кольцо можно судить о полноте обмена. При полном обмене кольцевая хромосома сопровождается одним парным фрагментом, поскольку оба концевых фрагмента соединяются между собой. При неполных обменах кольцевая хромосома сопровождается двумя парными фрагментами. Однако этот критерий не всегда надежен, так как возможна потеря фрагментов, наличие других фрагментов, не связанных с данной aberrацией, что может быть установлено только при кариотипировании метафазной пластинки.

## Перицентрические и парацентрические инверсии.

*Перицентрические инверсии* относятся к межплечевым обменам и представляют собой результат инверсии (переворота на  $180^\circ$ ) сегмента, содержащего центромеру, с последующим его включением в ту же хромосому и воссоединением разорванных концов (рис. 1.4.).

Если точки обмена находятся на разном расстоянии от центромеры, то перицентрическую инверсию можно обнаружить на основании изменения соотношения плеч в хромосоме. В тех случаях когда точки обмена находятся примерно на одинаковом расстоянии от центромеры, инвертированную хромосому практически нельзя выявить без применения методов дифференциальной окраски.

*Парацентрические инверсии* представляют собой результат инверсии интерстициального участка внутри плеча поврежденной хромосомы. При равномерной окраске хромосом этот тип aberrаций не может быть идентифицирован.

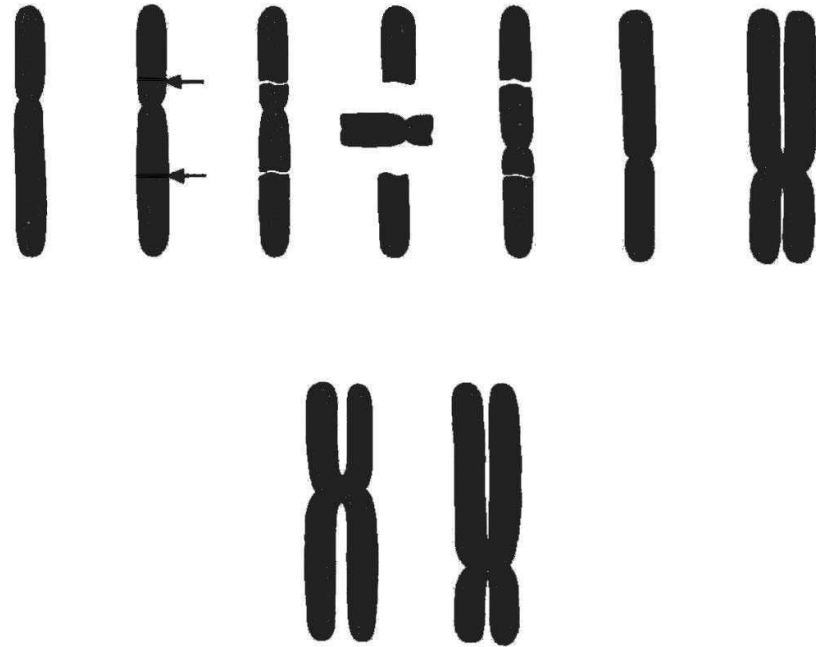


Рис. 1.4. Происхождение перицентрической инверсии (вверху); сопоставление «инвертированной» хромосомы с гомологом (внизу).

## Межхромосомные обмены

Межхромосомные обмены встречаются довольно часто, в особенности при исследовании действия излучения. В обмен могут быть вовлечены две и более хромосомы. По характеру рекомбинации хромосом среди межхромосомных обменов различают симметричные и асимметричные обмены. К межхромосомным обменам относят полицентрические хромосомы и реципрокные транслокации. **Реципрокные транслокации.** Этот вид межхромосомных обменов представляет собой aberrации, возникающие в результате взаимного обмена

между двумя хромосомами дистальными ацентрическими участками (рис. 1.5.).

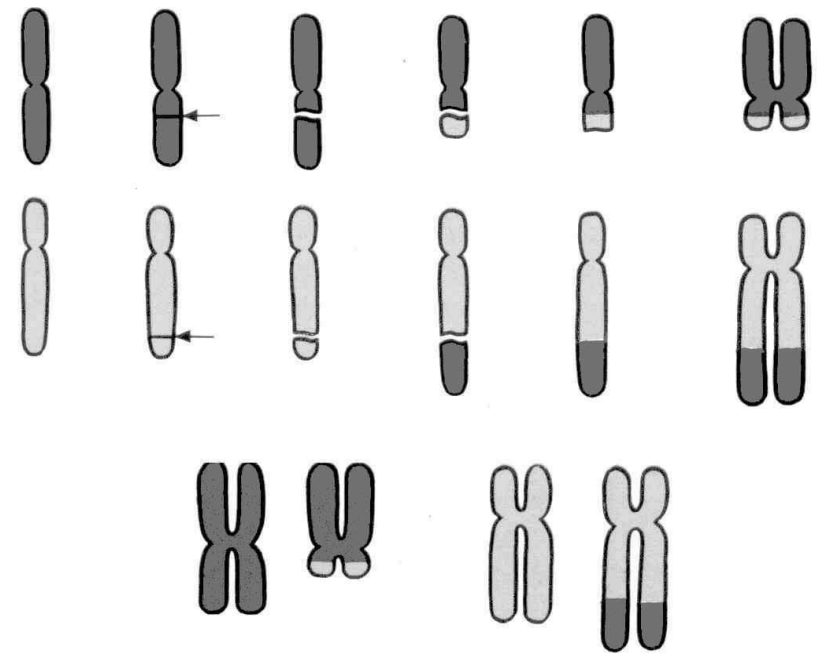


Рис. 1.5. Происхождение реципрокной транслокации между двумя хромосомами и сопоставление перекомбинированных хромосом с гомологами.

*Реципрокные транслокации* относятся к симметричным обменам. Как и инверсии, они сохраняются в ряду клеточных поколений, т. е. являются стабильными aberrациями. При равномерной окраске хромосом реципрокные транслокации распознаются только в тех случаях, когда обмениваемые дистальные участки разной длины, что приводит к появлению необычных по длине и (или) форме хромосом. Иногда, если обмен бывает неполным, может возникнуть ацентрический фрагмент. Если транслокации подвергаются равные по длине дистальные участки хромосом, то такой обмен практически нельзя обнаружить без применения методов дифференциальной окраски. В некоторых случаях в реципрокную транслокацию могут быть вовлечены три хромосомы.

**Полицентрические хромосомы.** Это межхромосомные обмены, включающие две и более центромеры. Все они являются асимметричными обменами. Чаще встречаются дицентрические хромосомы (дицентрики), которые представляют собой аберрации, возникающие в результате обмена между собой двух центрических фрагментов (рис. 1.6.).

По характеру рекомбинации ее можно назвать асимметричной транслокацией, которая как правило, сопровождается парным ацентрическим фрагментом, в редких случаях - двумя. Наличие двух парных фрагментов при одной дицентрической хромосоме свидетельствует о неполном обмене.

При большом числе повреждений в клетке могут встречаться обмены между тремя и более хромосомами с образованием трицентрических, квадрицентрических фигур. Иногда встречаются дицентрические хромосомы с «вставками» из других хромосом. Такая структура бывает необычно длинной, ее длина вместе с сопутствующими ацентрическими фрагментами превышает суммарную длину составляющих ее двух хромосом. По числу разрывов такие дицентрические хромосомы эквивалентны трицентрическим.

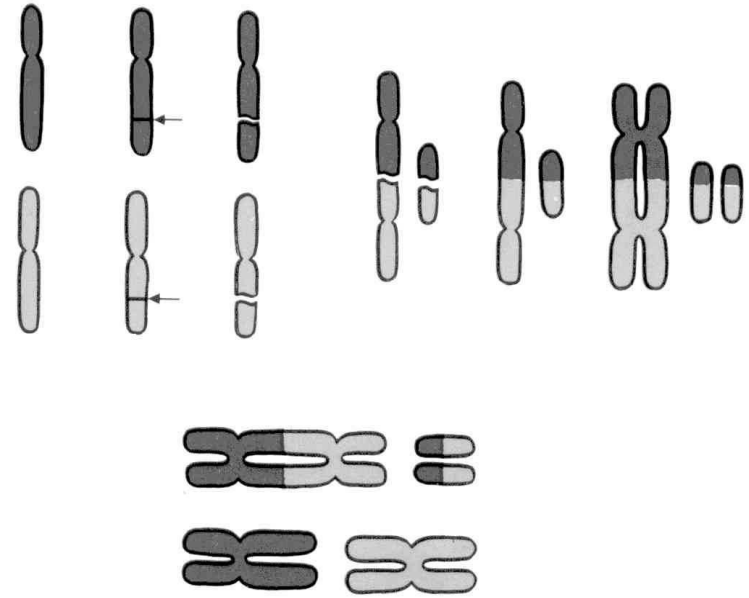


Рис. 1.6. Происхождение дицентрической хромосомы и сопоставление по длине хромосом, вовлеченных в дицентрическую структуру, с их гомологами.

## 1.2. Аберрации хроматидного типа

Конфигурация аберраций хроматидного типа крайне разнообразна. Среди аберраций хроматидного типа также выделяют простые (одиночные фрагменты) и обмены.

### ***Одиночные фрагменты***

В основе механизма образования этих аберраций находится повреждение одной хроматиды. Фрагмент всегда лежит рядом с гомологичным участком неповрежденной хроматиды (рис. 1.7).

Их часто приходится дифференцировать от изохроматидных пробелов. О фрагментах говорят в том случае, когда последний смещен по отношению к идентичному участку другой неповрежденной хроматиды под углом, по длине или в сторону.

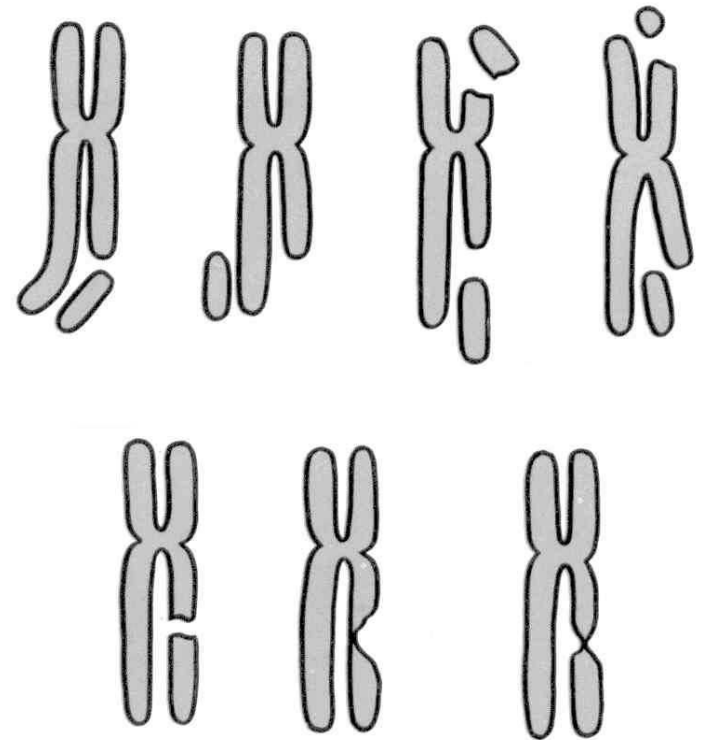


Рис. 1.7. Одиночные фрагменты и хроматидные пробелы.

## ***Внутрихромосомные внутриплечевые обмены***

Они могут возникать чаще всего в результате двух повреждений в одной и той же хроматиде или в обеих хроматидах. Иногда обмены возникают при большем числе повреждений.

### **Внутрихроматидные обмены.**

Внутрихромосомные внутриплечевые внутрихроматидные обмены бывают полными и неполными (рис. 1.8.). Возможно несколько вариантов рекомбинации фрагментов поврежденной хроматиды.

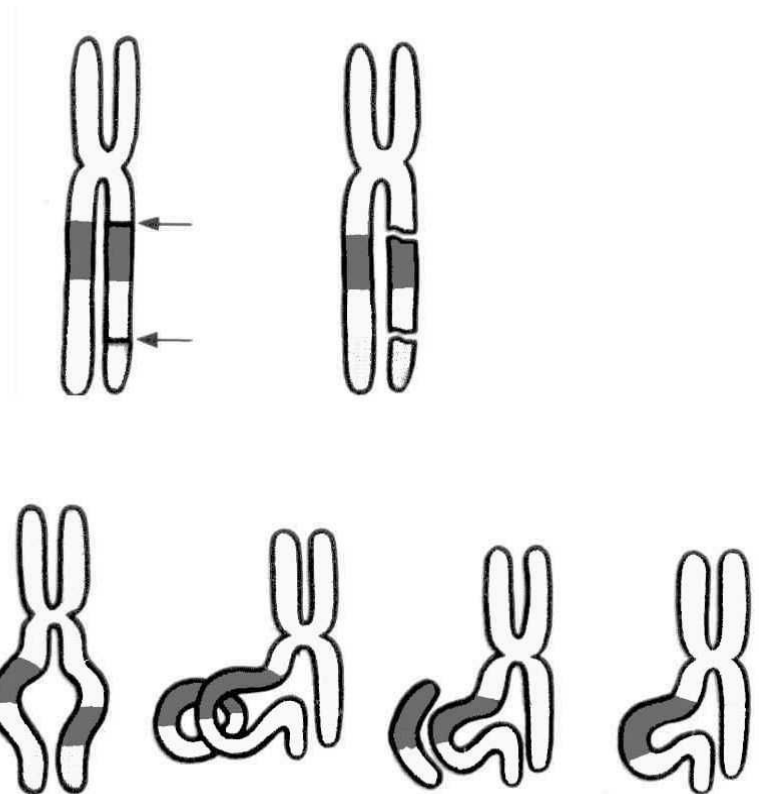


Рис.1.8. Происхождение внутрихроматидных внутриплечевых обменов и их конфигурация.

Два повреждения в одном и том же плече хроматиды приводят к появлению дистального и интерстициального сегментов. Последний может инвертироваться с последующим включением в ту же хроматиду, что приводит к восстановлению последней. Вследствие этого нарушается местоположение идентичных участков сестринских хроматид. В силу взаимного притяжения участков сестринских хроматид образуются конфигурации, форма которых зависит от локализации точек разрывов по длине хроматиды. Если разрывы локализованы не очень близко друг к другу, то одна из хроматид на уровне точек обмена выгибается в виде дуги. А аналогичный участок хроматиды образует петлю, чтобы идентичные точки сестринских хроматид совпадали на одном уровне.

В других случаях разорванные концы интерстициального сегмента могут соединяться друг с другом, образуя ацентрическое кольцо, а дистальный сегмент может соединиться с центрическим своими свободными концами. Образуется конфигурация, сходная с вышеописанной, с тем различием, что поврежденная хроматида не связана с кольцом и четко определяется по всей длине.

Иногда интерстициальный сегмент может быть утерян. В этом случае определяется лишь дугообразная конфигурация неповрежденной хроматиды.

При неполных обменах могут возникать варианты, когда дистальный фрагмент не соединен с центрическим или не соединены между собой свободные концы интерстициального фрагмента. Во всех случаях другие элементы поврежденной хромосомы обмениваются между собой.

## Межхроматидные обмены.

Принято называть их обменами со слиянием сестринских хроматид (рис. 1.9.).

В основе их образования лежат изохроматидные разрывы. Они могут быть полными и неполными. При полном обмене соединены между собой концы как центрического, так и дистальных ацентрических фрагментов. При неполном обмене соединены не все элементы поврежденной хромосомы. Соединенные между собой дистальные ацентрические фрагменты имеют характерный вид дуги и их идентификация не представляет особых трудностей.

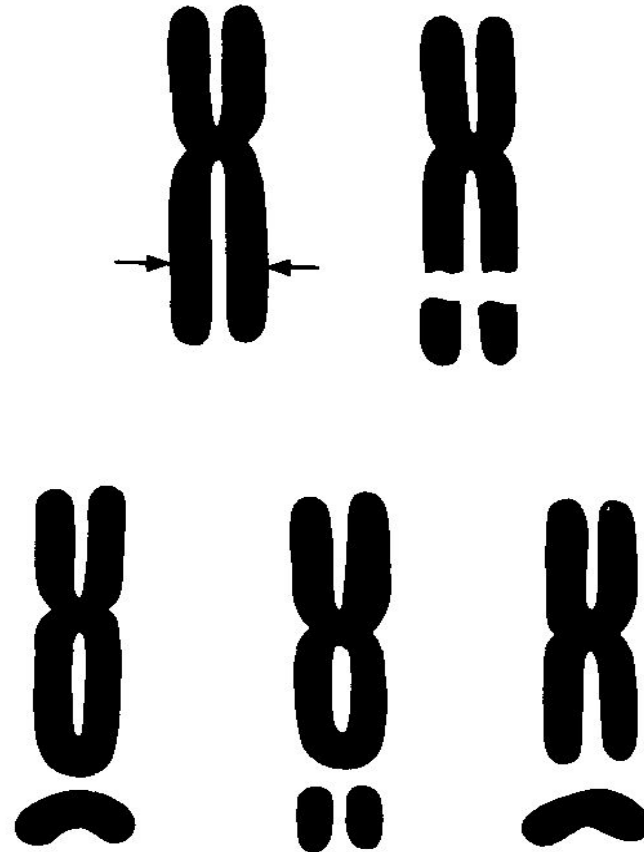


Рис. 1.9. Обмены со слиянием сестринских хроматид.



## **Внутрихромосомные межплечевые обмены**

Конфигурация внутрихромосомных межплечевых обменов хроматидного типа часто бывает сложной и их идентификация порой требует кариотипирования метафазной пластинки, особенно в тех случаях, когда в последней недостает одной-двух хромосом.

В результате разрыва в обоих плечах появляются дистальные фрагменты хроматиды с открытыми концами, способными вступать в обмен (рис. 1.10).

Оба конца центрического участка хроматиды также могут вступать в обмен. При такой ситуации возможны два варианта рекомбинации:

а) в обмен вступают между собой свободные концы центрического участка хроматиды, образуя своеобразное кольцо; дистальные фрагменты могут также соединиться (в таком случае образуется полный обмен) или нет (неполный обмен);

б) в обмен вступают дистальные фрагменты, обмениваясь с противоположными концами центрического участка хроматиды. В зависимости от порядка соединения обмениваемых элементов конфигурация обменов может быть разной. В большинстве случаев перекомбинированная хромосома имеет характерный вид „ракетки“. Такая конфигурация выглядит особенно отчетливо при обменах в больших хромосомах, если одна из точек разрыва находится недалеко от центромеры, другая — в дистальном районе хроматиды. Если обе точки разрыва находятся в дистальном районе, то образуется незамкнутая в двух местах кольцевидная структура.

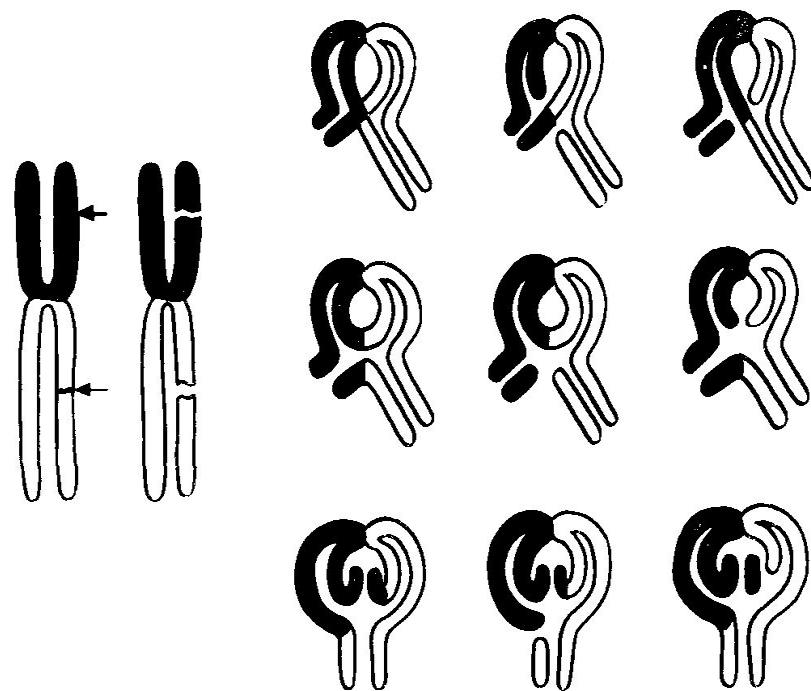


Рис. 1.10. Происхождение и конфигурация внутрихромосомных межплечевых хроматидных обменов.

**Межхромосомные обмены.** Такие обмены хроматидного типа встречаются более часто, чем другие обмены из этой группы, при этом морфология их крайне многообразна. Форма этих обменных структур зависит от числа хромосом, участвующих в обмене, величины обмениваемых участков, симметричности или асимметричности, полноты обмениваемых участков, гомологичности хромосом. Вместе с тем идентификация межхромосомных обменов не представляет больших трудностей. При их анализе, так же, как при анализе любых других aberrаций хроматидного и хромосомного типов, необходимо помнить об одном цитогенетическом правиле: сестринские хроматиды взаимно притягиваются независимо от их перемещения.

**Хроматидо-хроматидные обмены.** Чаще всего обнаруживаются обмены между хроматидами двух хромосом (отсюда и обозначение их термином **«хроматидо-хроматидные»**, подчеркивающее уровень рекомбинации в обеих хромосомах). Из-за характерной конфигурации обмены между двумя хромосомами получили и другое, более распространенное, название **«квадрирадиалы»** (рис. 1.11.).

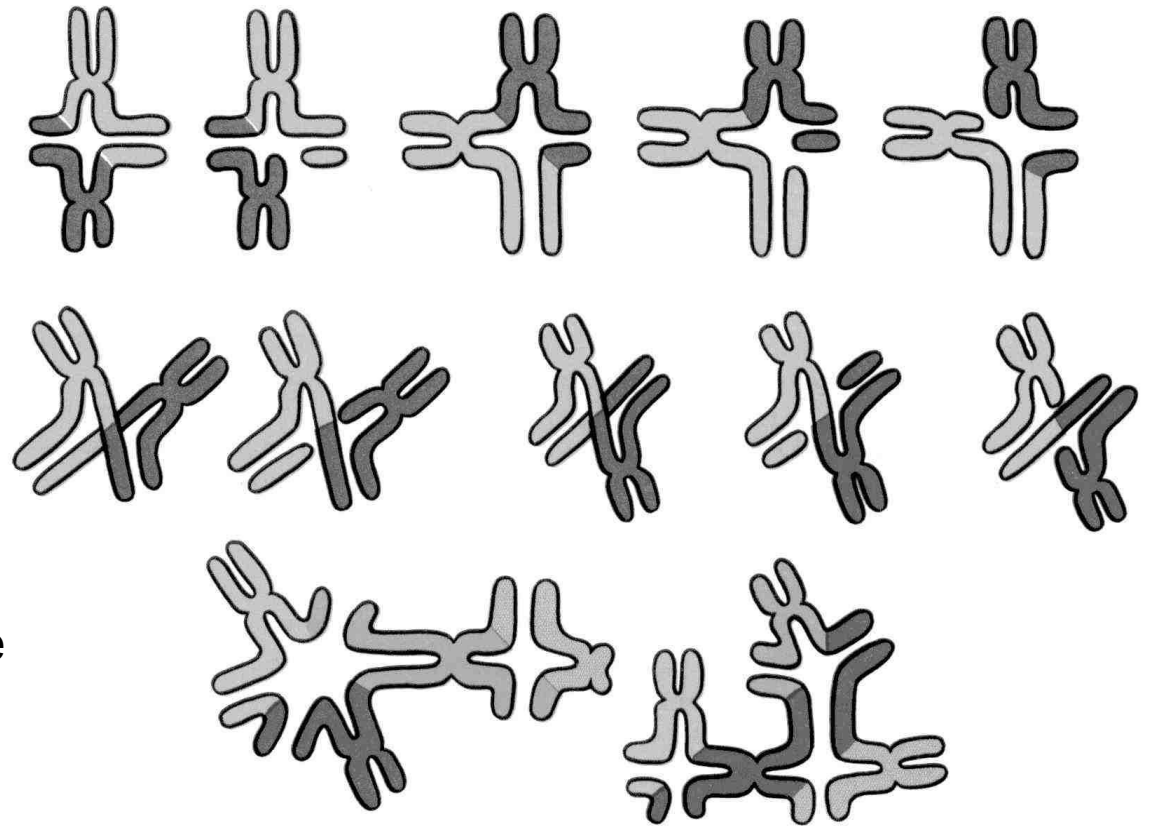


Рис. 1.11. Межхромосомные хроматидо-хроматидные обмены.

Развернутое обозначение этих обменов, применяемое не часто и то лишь в специальной литературе, учитывает некоторые стороны механизма их становления. Тот же квадрирадиал можно представить как «хроматидо-хроматидный полный (или неполный) симметричный (или асимметричный) межхромосомный обмен».

**Хроматидо-изохроматидные обмены.** В обменах этого типа принимают участие две хромосомы, в одной из которых произошел хроматидный разрыв, в другой - изохроматидный (рис. 1.12.).

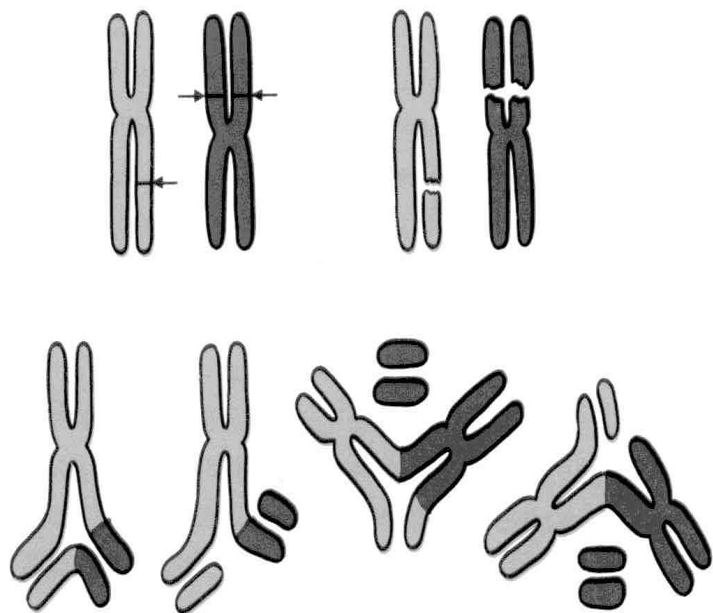


Рис. 1.12. Хроматидо-изохроматидные обмены.

В зависимости от того, какие элементы хромосомы, в которой произошел изохроматидный разрыв, вступают в обмен свободными концами с другой хромосомой, они подразделяются на симметричные (в этом случае ацентрические фрагменты вступают в обмен) и асимметричные (в обмене участвует центрический фрагмент). В связи с характерной конфигурацией этого типа aberrаций принято более употребительное название — «трирадиал». Однако такое название не подчеркивает тех особенностей, о которых было сказано выше. Ряд исследователей выделяют эти обмены в отдельную группу — aberrации смешанного типа.

Хроматидо-изохроматидные обмены могут быть полными и неполными. Более трудны в идентификации неполные обмены с участием центрического фрагмента, картину которых могут создавать случаи соприкосновения (или наложения) теломерных концов какой-либо неповрежденной хромосомы со свободными концами хромосомы, в которой имеется разрыв хроматиды. Однако такие случаи очень редки при хорошем разбросе хромосом на препарате. Обычно при участии в обмене центрического фрагмента определяются парные ацентрические фрагменты, на основании чего легче дифференцировать «трирадиал» от артефактов.

При проведении метафазного анализа хромосом возможны два вида учета хромосомных aberrаций: *с кариотипированием* метафазной пластинки и *без кариотипирования*. Первый метод наиболее точен, но трудоемкий. Он применяется в основном при изучении специальных вопросов, таких как распределение aberrаций по группам, по длине хромосом, анализ хромосом участвующих в перестройках и т. д.

Для целей тестирования факторов среды на мутагенную активность используется учет хромосомных aberrаций без кариотипирования. В случаях сложной идентификации aberrаций хромосом в виде транслокаций или инверсий обязательно проводится кариотипирование.

## **Основные правила при анализе и учете aberrаций хромосом:**

- В первом митозе дицентрические и кольцевые хромосомы почти всегда сопровождаются парным фрагментом. Обе эти структуры регистрируются как одна aberrация.
- При анализе количества поврежденных хромосом каждый одиночный и парный фрагменты учитываются как одна поврежденная хромосома.
- Внутрихромосомные обмены, хроматидные и хромосомные обмены между двумя хромосомами учитываются как две поврежденные хромосомы.
- При участии в обмене трех и более хромосом число поврежденных хромосом рассчитывается на число разрывов, необходимых для образования наблюдаемой aberrации.
- Перед началом анализа в бланк-протокол (рис. 1.13.) записывается шифр препарата, № микроскопа, фамилия исследователя и дата исследования. Каждый из прямоугольников на бланке соответствует одной проанализированной клетке. В них отмечается число хромосом, координаты пластинки. Если имеется aberrация, то она зарисовывается. Клетки без aberrаций обозначаются символом N.
- После завершения анализа препарата в бланк заносятся следующие результаты: общее количество проанализированных клеток, число клеток с aberrациями хромосом, общее число aberrаций, общее число поврежденных хромосом, типы aberrаций.
- Результаты цитогенетического анализа вносятся в таблицу.



## Литература

1. Бектон К., Эванс Г. Методы анализа хромосомных aberrаций у человека. М.: Медицина, 1975. 64 с.
2. Бочков Н. П. Хромосомы человека и облучение. М.: Атомиздат, 1971.
3. Бочков Н. П., Демин Ю. С., Лучник Н. П. Классификация и методы учета хромосомных aberrаций в соматических клетках // Генетика. 1972, Т. 8, № 5. С. 133.
4. Бочков Н. П., Чеботарёв А. Н. Наследственность человека и мутагенез внешней среды. М.: Медицина, 1989.
5. Ивенс Х. Повреждения хромосом ионизирующим излучением. М.: Атомиздат. 1966.
6. Метод учета хромосомных aberrаций как биологический индикатор влияния факторов внешней среды на человека. М., 1974. 31 с.
7. Митрофанов Ю. А. Индуцированная изменчивость хромосом эукариот. М.: Наука, 1994.
8. Руднев М. Влияние низких доз ионизирующего облучения и других факторов окружающей среды на организм. Киев: Наукова думка, 1994. 216 с.
9. Севаньяев А. В. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. М., 1987.

## 2. СПОНТАННЫЙ УРОВЕНЬ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ ЧЕЛОВЕКА

В качестве контроля при исследовании индуцированных тем и или иными факторами aberrаций принимаются количественные и качественные параметры спонтанных хромосомных aberrаций. Последние могут быть индуцированы радиацией, химическими веществами и другими факторами. О спонтанных хромосомных aberrациях говорят в тех случаях, когда точная причина их возникновения неизвестна. Этот термин более принят применительно к соматическим клеткам здоровых лиц.

Ниже рассмотрены основные параметры спонтанных хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека.

При исследовании более 60 тыс. клеток в 531 культуре от 437 человек обнаружено, что средняя частота клеток с хромосомными aberrациями составляет 1,19 %, а число aberrаций на клетку не превышает 0,0124. Сравнение этих показателей у лиц разного возраста и пола не выявило их существенных колебаний, т. е. частота спонтанных хромосомных aberrаций находится в одних и тех же пределах у индивидов мужского и женского пола в возрасте от 0 до 70 лет (табл. 2.1).

**Таблица 2.1. Частота спонтанных aberrаций хромосом у лиц разного возраста и пола**

| Возрастная группа | Пол | Обследовано индивидов | Исследовано культур | Общее число метафаз | Аберрантные клетки, % | Аберраций хромосом на 1 клетку |
|-------------------|-----|-----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Новорожденные     | М   | 58                    | 64                  | 6641                | 1,29                  | 0,0133                         |
|                   | Ж   | 49                    | 56                  | 5548                | 1,19                  | 0,0119                         |
|                   | М+Ж | 107                   | 120                 | 12189               | 1,25                  | 0,0126                         |
| 20–30-летние      | М   | 160                   | 225                 | 22776               | 1,19                  | 0,0127                         |
|                   | Ж   | 97                    | 128                 | 13455               | 1,11                  | 0,0114                         |
|                   | М+Ж | 257                   | 381                 | 39031               | 1,15                  | 0,0120                         |
| 55–70-летние      | М   | 51                    | 58                  | 5800                | 1,48                  | 0,0155                         |
|                   | Ж   | 22                    | 30                  | 3000                | 1,03                  | 0,0103                         |
|                   | М+Ж | 73                    | 88                  | 8800                | 1,33                  | 0,0138                         |
| Всего:            | МЖ  | 437                   | 561                 | 60020               | 1,19                  | 0,0124                         |



Все проанализированные культуры были разделены на 2 группы: зафиксированные на 50–60–м часу культивирования (первый митоз) и на 70–74–м часу (второй митоз). Существенных различий в частоте метафаз с aberrациями и количестве aberrаций на 1 метафазу при фиксации в первом и втором митозах обнаружено не было (табл. 2.2).

*Таблица 2. 2.*

**Частота спонтанных aberrаций в первом и втором митозах**

| Время культивирования (в часах) | Общее число культур | Проанализировано метафаз | Аберрантные клетки, в % | Аберраций хромосом на 1 клетку |
|---------------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 50–60 (I митоз)                 | 428                 | 43489                    | 1,16                    | 0,0118                         |
| 70-74 (II митоз)                | 211                 | 16531                    | 1,28                    | 0,0141                         |

Среди обнаруженных aberrаций более 90% составили ацентрические фрагменты (одиночные и парные) (табл. 2.3). Обменные aberrации составили около 6–8%. При анализе типов хромосомных aberrаций в клетках первого и второго митозов было отмечено изменение соотношения aberrаций хроматидного и хромосомного типа.

Частота хроматидных aberrаций (одиночные фрагменты и хроматидные обмены) снизилась от 63,3% при фиксации на 50–60–м часу культивирования до 54,1% во втором митозе. Доля же хромосомного типа aberrаций возрастала.

**Таблица 2. 3. Типы спонтанных хромосомных aberrаций**

| Типы aberrаций               | I митоз |                   | II митоз |                   |
|------------------------------|---------|-------------------|----------|-------------------|
|                              | число   | % от общего числа | число    | % от общего числа |
| Одиночные фрагменты          | 300     | 60,5              | 124      | 53,2              |
| Парные фрагменты             | 155     | 31,3              | 97       | 41,6              |
| Хроматидные обмены           | 14      | 2,8               | 2        | 0,9               |
| Дицентрические хромосомы     | 17      | 3,4               | 6        | 2,6               |
| Атипичные хромосомы          | 5       | 1,0               | 1        | 0,4               |
| Кольцевые хромосомы          | 1       | 0,2               | 2        | 0,9               |
| Ацентрические кольца         | 1       | 0,2               | 0        | 0,0               |
| Разрывы в области центромеры | 3       | 0,6               | 0        | 0,0               |
| Прочие                       | 0       | 0,0               | 0        | 0,0               |
| Всего                        | 496     | 100,0             | 233      | 100,0             |

Распределение исследованных культур по частоте клеток с хромосомными aberrациями оказалось следующим (табл. 2.4): из 527 изученных культур 30,4% были без aberrаций, 38,1% имели по одной aberrантной метафазе и одной хромосомной aberrации, 19,9% – по две, 8,3% - по три, 2,1% – по четыре, 0,4% – по пять, 0,6% – по шесть и 0,2% – по семь. Таким образом, 96,7% исследуемых культур лимфоцитов от здоровых лиц имели частоту aberrантных клеток и хромосомных aberrаций в пределах от 0 до 3%. Это распределение культур соответствует теоретическому распределению Пуассона, на основании чего можно сделать заключение о том, что максимальный уровень клеток с хромосомными aberrациями в культуре лимфоцитов человека в норме не превышает 3%. Проверка соответствия эмпирического распределения культур по частоте клеток с aberrациями хромосом с распределением Пуассона, а также биномиальным распределением не показали отличий ни от одного, ни от другого теоретического распределения. Средняя величина частоты клеток с хромосомными aberrациями для рассматриваемых распределений составляет 1,18%.

Таблица 2.4.

## Распределение культур по частоте клеток с хромосомными абберациями

| % абберантных метафаз в культуре | Распределение культур |                        |                            |
|----------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
|                                  | эмпирическое          | теоретическое Пуассона | теоретическое биномиальное |
| 0                                | 160                   | 161,9                  | 160,8                      |
| 1                                | 201                   | 191,1                  | 192,0                      |
| 2                                | 105                   | 112,7                  | 113,5                      |
| 3                                | 44                    | 44,3                   | 44,3                       |
| 4                                | 11                    | 13,1                   | 12,8                       |
| 5 и более                        | 6                     | 3,9                    | 3,6                        |
| В с е г о                        | 527                   | 527,0                  | 527,0                      |

Индивиды, со средней частотой встречаемости аббераций хромосом от 2% до 4% составляют группу повышенного генетического риска. В группу высокого генетического риска относятся лица со средней частотой абберантных клеток в крови превышающей 4%.

## Литература

1. Бочков Н. П. Учет хромосомных aberrаций в соматических клетках / Кн.: Основы цитогенетики человека. М.: Медицина. 1970. С. 517 -522.
2. Бочков Н. П., Катосова Л. Д., Платонова В. И. и др. Неоднородность контрольных выборок как причина дополнительных вариаций спонтанного уровня хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов человека // Генетика. 1994.Т. 30, № 4. С. 463 - 466.
3. Бочков Н. П., Кулешов Н. П., Журков В. С. Анализ спонтанных хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов человека // Цитология. 1972. Т.14, № 10. С.8 - 10.
4. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: В 3-х т. Т. 2. - М.: Мир, 1990, С. 142 - 196.
5. Прокофьева-Бельговская А. А. Нормальный хромосомный набор /Кн. Основы цитогенетики человека. М.: Медицина. 1970. С. 64 - 86.

### 3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ

Радиация высоких энергий способна разрушить любую связь в органических молекулах, что определяет многосторонность ее действия. Эффект ионизирующих лучей на клетки возникает вследствие адсорбции энергии вблизи молекулы ДНК.

Нарушения ДНК связаны со следующими событиями: разрывы цепей ДНК (одно- и двунитевые), повреждения оснований, сшивки ДНК-ДНК (продольные сшивки между основаниями и поперечные- между двумя цепями в одной спирали) и сшивки ДНК-белок.

Биологические последствия от появления сшивок невелики и возникают они реже, чем двунитевые разрывы ДНК. Сшивки ДНК-ДНК возникают реже, чем сшивки ДНК-белок. Кроме того радиация индуцирует также нарушения вторичной, третичной и четвертичной структуры ДНК.

Попадание кванта энергии при облучении клетки - процесс случайный, однако конечное повреждение образуется преимущественно в определенных участках хромосом, в так называемых «горячих точках». Это явление можно объяснить миграцией энергии или заряда вдоль хромосомы к наиболее «ранимым» местам. Миграция электронного возбуждения по молекуле ДНК может распространяться на большие расстояния –  $10^3$ – $10^4$  пар оснований. Установлено, что если первоначально поражается наиболее радиостойчивая компонента в смеси «фосфат-сахар», которая в конечном счете локализуется на сахарной компоненте смеси. Далее миграции энергии или заряда идет в направлении наиболее легко возбуждаемых азотистых оснований, которые и являются преимущественными местами атаки электронов. С сахарным фрагментом ДНК электрон практически не реагирует, а лишь стабилизируется и за счет этого принимает участие в реакциях с азотистыми основаниями ДНК. Образующийся под действием  $\gamma$ -облучения анион-радикал может возникать случайно на любом из четырех нуклеотидов, а затем не спаренный электрон передается на тот нуклеотид, который обладает наибольшим электронным сродством. После этого анион-радикал превращается в стабильный. Таким образом, независимо от места первоначального попадания кванта энергии первичные повреждения начинают формироваться на пиримидиновых нуклеотидах. Более того, миграция энергии и заряда возможна не только внутри молекулы ДНК, но и с ДНК на протектор. Если такой миграции нет, то первичное радиационное повреждение локализуется на азотистых основаниях ДНК.

**Фрагментация ДНК.** В настоящее время доказано существование высоко интенсивных радиационно индуцированных процессов деградации молекул ДНК до меньших субъединиц и фрагментов. В случае если нуклеиновые полимеры содержат идентичные или повторяющиеся единицы, то могут возникать неоднократные повторные разрывы в одних и тех же сайтах. Это свидетельствует о том, что происходит перенос энергии, поглощенной в одной точке макромолекулы, вдоль нее вплоть до наиболее неустойчивого сайта.

**Разрывы одной и обеих цепей спирали ДНК.** При облучении организма встречаются разрывы как одной, так и одновременно двух цепей молекулы ДНК.

Под действием ионизирующей радиации чаще всего повреждается одна нить ДНК. При этом образуются такие первичные повреждения, как дезаминирование оснований, алкилирование, возникновение оксимов цитозина, димеризация или гидратация пиримидиновых оснований и др.

Ионизирующие излучения способны вызвать разрушение фосфодиэстеразных связей между углеводными остатками пентоз и фосфатами в положении 3'→5' или положении 5'→3'.

Разрушения фосфодиэстеразных связей могут происходить непосредственно друг против друга или в пределах определенного расстояния по длине макромолекулы. При разрыве химических связей непосредственно перед и непосредственно после пентоз с одновременным разрушением внутри двойной спирали водородных связей между соответствующими комплементарными азотистыми основаниями происходит потеря двух нуклеотидов с двух сторон.

Восстановление целостности одной из цепей после разрыва между углеродными и фосфатными остатками возможно при отсутствии расхождения образовавшихся концевых фрагментов. Такое восстановление исключается, если хотя бы один из концов после разрыва пребывает в реактивном состоянии; последний может под воздействием кислорода быть подвергнут перекисному окислению, и, следовательно, утратить способность к репаративному воссоединению.

Нарушение надмолекулярной структуры (деспирализация) обусловлено двойными разрывами ДНК, которые возникают, если одиночные разрывы нитей ДНК расположены на расстоянии не более 10 пар нуклеотидов друг от друга.

Двойной разрыв, а именно разрыв обеих цепей двойной спирали, происходит лишь в случае локализации повреждений каждой из цепей на расстоянии менее пяти нуклеотидов друг от друга. Такое состояние наступает, если два одиночных разрыва оказываются в непосредственной близости, или же если частица с высокой плотностью ионизации производит разрыв обеих цепей. Для этого необходимо около 500 эВ при кластере ионизации до 20 □.

Расчеты показывают, что уже при дозе 1 Гр в каждой клетке человека повреждается 5000 оснований молекул ДНК, возникает 1000 одиночных и 10–100 двойных разрывов, каждый из которых может стать причиной аберрации.

**Разрывы водородных связей двойной спирали ДНК.** Вторичные реакции – это разрывы водородных связей, конфигурационные изменения надмолекулярных структур ДНК, а также внутри- и межмолекулярные сшивки полимерных цепей.

Ряд молекул путем образования водородных связей между их функциональными группами способны формировать трехмерные структуры. В ДНК они образуют двойную спираль посредством парного связывания оснований. Две водородные связи, которые соединяют комплементарные основания аденин и тимин в нативной ДНК, могут быть нарушены, что предшествует полному разделению двух азотистых оснований. Водородные связи как вид слабого взаимодействия являются высоко радиочувствительными. Их разрушение при облучении приводит к серьезным изменениям молекулярной структуры.

**Внутримолекулярные перекрестные связи ДНК.** При облучении могут формироваться не существующие в норме перекрестные внутримолекулярные связи в пределах двойной спирали ДНК. Примером этого может служить образование ковалентных связей между двумя пиримидиновыми основаниями, возникающие под воздействием ультрафиолетового излучения.

В двуспиральной молекуле ДНК смежные комплементарные пары азотистых оснований аденин–тимин и аденин–тимин, по существу, разделяют между собой одну плоскость симметрии. Два смежных тиминовых основания не соединены друг с другом, поскольку они ассоциируются с двумя комплементарными аденинами при помощи двойных водородных связей, параллельных по отношению друг к другу и перпендикулярных по отношению к продольной оси двойной спирали макромолекулы. Реализация радиационных эффектов начинается с появления первой ковалентной связи между атомами  $C_5$  и  $C_5$  в двух смежных тиминовых основаниях (из четырех существующих водородных связей между двумя парами оснований аденин-тимин остаются лишь три: протяженность их существенно превышает таковую в физиологических условиях). Образование данной первой ковалентной связи означает притягивание одного из тиминовых оснований другим, что предполагает ротацию смежного тимина вокруг  $\beta$ -гликозидной связи атома  $N_1$  пиримидинового основания с атомом  $C_1$  2-дезоксирибозы. Далее ионизирующие излучения вызывают разрыв остальных трех водородных связей и индуцируют образование второй ковалентной связи между атомами  $C_6$  и  $C_6$  двух смежных тиминов. Образование замкнутой структуры  $C_5 \rightarrow C_5 \rightarrow C_6 \rightarrow C_6$  (циклобутана) сопровождается некоторой непараллельной ротацией двух тиминовых оснований вокруг их соответствующих  $\beta$ -гликозидных связей; эти ротации обуславливают заметное местное искажение формы двойной спирали макромолекулы. Неравная ротация двух смежных тиминовых оснований стабилизируется при образовании между ними угла  $90^\circ$ . В данном случае величина радиационного повреждения молекулы ДНК максимальна. Важно отметить, что ковалентная связь димеров является существенно более стабильной, чем водородные связи между комплементарными основаниями.



## ***Потеря ДНК пуриновых оснований (депурирование).***

Одним из частых изменений ДНК при облучении является повреждение оснований (потери и химические модификации).

Из азотистых оснований большей радиочувствительностью обладают пиримидиновые (тимин, цитозин), из которых самый лабильный тимин. Пуриновые основания в 2 раза устойчивее пиримидиновых (аденин, гуанин). Причем нуклеотидные основания повреждаются чаще, чем сахарофосфатная часть ДНК, примерно в 3 раза. Следует отметить, что 80–90% электронов и радикалов, образующихся при облучении, реагируют с азотистыми основаниями – самыми лабильными частями молекулы и только 10–20% энергии расходуется на разложение сахарофосфатного фрагмента ДНК. Наиболее радиоустойчивыми являются углеродные связи, которые в 7,5 раз стабильнее, чем фосфодиэфирные.

Эти процессы приводят к чрезвычайно тяжелым нарушениям способности ДНК хранить генетическую информацию.

### 3.1. Механизмы рекомбинации ДНК

Существует три вида рекомбинации: общая (гомологическая), сайт-специфическая и случайная (негомологичная).

**Общая рекомбинация.** Общая рекомбинация (гомологичная или кроссинговер) происходит между протяженными участками идентичных или гомологичных нуклеотидных последовательностей. При общей рекомбинации происходит разрыв двух гомологичных участков ДНК, и каждый из концов одного сегмента соединяется с соответствующими концами другого таким образом, что обе образующиеся молекулы содержат разные фрагменты обеих участвующих в рекомбинации ДНК.

На самом деле сайты, по которым происходит разрыв и воссоединение каждой из двух цепей, часто не совпадают.

Обычно общая рекомбинация происходит между гомологичными и аллельными участками разных молекул ДНК. Рекомбинация может произойти между гомологичными, но неаллельными областями рекомбинирующих молекул. В этом случае один из продуктов рекомбинации утрачивает часть ДНК, а другой приобретает «лишний» сегмент. Этот процесс называется **неравным кроссинговером**.

Иногда рекомбинация происходит между неаллельными участками одной и той же хромосомы (между повторяющимися последовательностями ДНК) с соответствующей потерей области, лежащей между сайтами рекомбинации.

Некоторые рекомбинационные события нереципрокны. Один из образовавшихся продуктов идентичен одной из исходных молекул, а другой отличается от обоих партнеров. Этот процесс называется **генной конверсией**.

Чтобы могла произойти рекомбинация между двойными спиральями, каждая из четырех цепей должна быть разорвана и затем соединена с новым партнером.

В основе рекомбинации данного типа лежит гомологичное спаривание цепей, принадлежащих разным спиральям ДНК или между двумя повторами в пределах одной молекулы ДНК или между аллельными и неаллельными элементами одной и той же последовательности в двух разных хромосомах.

Имеются некоторые особенности этого механизма. Образование ошибочных пар (гетеродуплексов) в районах, фланкирующих брешь, обуславливает получение как реципрокных, так и нереципрокных рекомбинаций между генетическими маркерами. Если двухцепочечный разрыв происходит вблизи (или в пределах) участка, где между спиральями имеются различия (замены оснований, делеции, вставки, инверсии и т.п.), то рекомбинанты унаследуют нуклеотидную последовательность партнера, у которого разрыва не происходило. Этот механизм объясняет многие случаи генной конверсии, особенно те, в которых протяженная последовательность одного дуплекса замещается соответствующей, но отличающейся последовательностью другого дуплекса.

Нереципрокная общая рекомбинация используется и при репарации некоторых повреждений ДНК. Например, если тиминные димеры не были удалены из УФ-облученной ДНК до того, как к ним подошла репликативная вилка, то синтез комплементарной цепи в этом участке не может быть завершен. Поскольку тиминные димеры, находящиеся напротив бреши, не могут быть выщеплены, остается один путь для спасения хроматиды – использовать генетическую информацию гомологичной сестринской хроматиды и заполнить брешь. Для этого применяется такой же механизм, как для репарации брешей.

**Сайт-специфическая рекомбинация.** Рекомбинация называется сайт-специфическая, если сайты разрыва и воссоединения в двух рекомбинирующих молекул или двух фрагментах одной и той же молекулы ДНК находятся в пределах довольно коротких специфических гомологичных нуклеотидных последовательных – не более 25 нуклеотидов. Такие короткие последовательности может иметь только один из партнеров (случай транспозиции некоторых мобильных элементов у эу- и прокариот) или оба (процесс интеграции-выщепления ДНК). С помощью сайт-специфической рекомбинации происходят запрограммированные перестройки хромосомной ДНК или формируется разнообразие антител. Общая рекомбинация ДНК между любыми парами гомологичных последовательностей осуществляется с помощью одного и того же комплекса ферментов. Для каждого случая сайт-специфической рекомбинации необходим свой набор ферментов.

**Негомологичная рекомбинация.** Рекомбинация между негомологичными нуклеотидными последовательностями происходит в эукариотических клетках весьма часто. К негомологичной рекомбинации относится процесс случайного встраивания вирусной или плазмидной ДНК в ДНК клеток животных, в результате чего появляется множество делеций и дупликаций. Концы разорванной ДНК могут соединиться, даже если они негомологичны. В некоторых случаях рекомбинация происходит между последовательностями, содержащими несколько гомологичных пар оснований, или между короткими частично гомологичными участками. Рекомбинирующиеся сегменты не имеют гомологичных последовательностей. Первичные повреждения ДНК могут быть репарированы, или возможно образование точковых мутаций, или первичные радиационные повреждения нуклеотидов могут дать начало цепи событий, приводящих к формированию хромосомных aberrаций.

«Точковые» мутации – это стабильные изменения на уровне нуклеотидов ДНК. При образовании «точковой» мутации не нарушается целостность хромосомы и не затрагивается ее белковый компонент.

Индукцированные облучением «точковые» мутации формируются в более короткий промежуток времени и в меньшей степени, чем хромосомные перестройки. Они зависят от различных внутриклеточных процессов, в том числе и репарационных. Сформированные мутации в зависимости от своего функционального значения приводят или к изменению генотипа, или к гибели клетки.

Радиационные нарушения хромосом по своему виду не отличаются от «фоновой» патологии. Если клетка в момент облучения готовится к делению, то чаще всего страдают хроматиды. Если же ДНК еще не удвоилась, то излучение поражает ее целиком.

## 3.2. Радиационно-индуцированные aberrации хромосом

Аберрации хромосом, индуцируемые ионизирующим излучением в соматических клетках человека, подразделяются на 2 типа: хромосомные и хроматидные. Тип aberrаций зависит от фазы клеточного цикла в момент действия излучения на хромосомы.

Аберрации хромосомного типа образуются при облучении клеток в  $G_0$ ,  $G_1$  и раннем S-периодах интерфазы клеточного цикла. На стадии метафазы среди них выделяют парные фрагменты (или терминальная делеция), ацентрические кольца, центрические кольца, дицентрические (или полицентрические) хромосомы, инверсии и реципрокные транслокации.

Симметричные обмены хромосомного типа в виде перцентрических инверсий и транслокаций без применения специальных методов могут быть замечены в случае, если наблюдается смещение центромеры в хромосоме.

В первом после воздействия радиации митозе aberrации обменного типа почти всегда встречаются с сопровождающими их парными фрагментами. Отсутствие сопутствующих фрагментов свидетельствует о том, что после облучения aberrантная клетка претерпела один митоз. Было показано, что частота возникновения ассиметричных и симметричных обменов в лимфоцитах человека после облучения *in vitro* одинакова.

Аберрации хромосомного типа, лишенные центромеры (парные фрагменты, ацентрические кольца), элиминируют после первого деления. Утрата хромосомного материала дочерней клеткой обуславливает ее репродуктивную гибель.

Центрические кольца, дицентрики и полицентрики могут образовывать мосты в анафазе митоза, которые механически препятствуют расхождению хромосом в дочерние клетки и часто приводят к гибели. Симметричные межхромосомные обмены (транслокации) и инверсии, не нарушают нормального протекания митоза и могут воспроизводиться при делении.

Аберрации хроматидного типа возникают при облучении клеток в  $G_2$ , S и позднем  $G_1$  – периодах интерфазы. Среди них выделяют одиночные (хроматидные) фрагменты, хроматидные и хроматидо–изохроматидные обмены.

Аберрации хроматидного типа, если они не препятствуют разделению хроматид во время митоза, сохраняются в дочерних клетках и при последующем делении выявляются как аберрации хромосомного типа.

Одиночные и парные фрагменты, дицентрики, полицентрики, кольца (центрические и ацентрические) и хроматидные обмены, которые обычно утрачиваются после первого митоза или при последующих делениях клеток, относят к аберрациям «нестабильного» типа. Симметричные межхромосомные обмены (транслокации) и инверсии сохраняются при делении и получили название аберрации стабильного типа.

В отношении «стабильных» аберраций отмечено, что их количество после облучения коррелирует с величиной поглощенной дозы и сохраняется неизменным в течение длительного времени. Полагают, что наличие стабильных аберраций в лимфоцитах человека сразу после острого облучения обусловлено непосредственным повреждением лимфоцитов, а их сохранность в лимфоцитах через много лет после облучения определяется тем, что первичное повреждение произошло в стволовых клетках, потомками которых являются лимфоциты.

В отношении «нестабильных» аберраций показано, что их количество после однократного острого облучения коррелирует с величиной поглощенной дозы. После облучения клетки с нестабильными аберрациями начинают элиминировать из крови. Предполагается, что полупериод выведения клеток с нестабильными аберрациями составляет 3–7 лет.

Некоторые радиационно-индуцированные аберрации являются результатом прохождения через хромосому лишь одной ионизирующей частицы (одно попадание и образование хроматидного фрагмента), поэтому их выход пропорционален дозе ( $\alpha D$ ). Такие аберрации называются одноударными. Другие аберрации (дицентрики, кольца) вызываются прохождением двух отдельных частиц и их выход пропорционален квадрату дозы ( $\beta D^2$ ) и их относят к двухударным.

Выход этих аберраций ( $Y$ ) после облучения клеток с низкой ЛПЭ в небольших дозах описывается уравнением:

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

где  $D$  – доза,  $\alpha$  и  $\beta$  – константы

Одноударные aberrации линейно зависят от дозы, а для более сложных aberrаций наблюдается нелинейная зависимость. Выход одноударных aberrаций не зависит от мощности дозы, так как если события по ионизации происходят с частотой 1 раз в 1 с или 1 раз в 1 мин и каждое такое событие вызывает разрыв, то соответственно через 1 мин или через 1 час в обоих случаях будет получена одна и та же поглощенная доза и возникает одно и тоже число (около 60) потенциальных разрывов хромосом. Два повреждения одной хромосомы, необходимые для образования более сложных aberrаций, могут порождаться одним или двумя треками ионизирующих частиц. Истинная форма кривой доза–эффект для двухударных aberrаций, например, нестабильных дицентриков, будет зависеть от мощности дозы и линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения.

Мощность дозы имеет важное значение для образования двухударных aberrаций. Их число зависит от вероятности того, что первый и второй разрывы будут находиться рядом друг с другом в пространстве и времени.

Исследования по определению характера дозовых зависимостей при  $\gamma$ -облучении лимфоцитов человека в диапазоне доз 0,5–5 Гр показали, что фрагменты (т. е. одноударные aberrации) характеризуются линейной зависимостью от дозы, а остальные типы aberrаций (дицентрики, центрические кольца и др.) – линейно–квадратической. В области высоких доз существует переход от линейно–квадратической к линейной зависимости выхода обменных aberrаций, что объясняется разной скоростью репарации при низких и высоких дозах. Кроме того, облучение лимфоцитов высокими дозами (5–12 Гр) вызывает отклонение от линейной зависимости частоты фрагментов с их выходом на плато. Возможно с увеличением дозы возрастает среднее число повреждений на одно плечо хромосомы и таким образом, все большая часть первичных повреждений будет «расходиться» на образование обменных aberrаций, снижая количество фрагментов.

Дозовые кривые могут иметь сложную или необычную зависимость.

Несмотря на неоднородный характер по дозовым зависимостям aberrаций хромосом их анализ остается важным методом при изучении процессов возникновения aberrаций хромосом.

Следующим важным параметром в биологической дозиметрии является линейная передача энергии (ЛПЭ), поскольку одиночный трек плотно ионизирующей частицы при действии излучения с высокой ЛПЭ легко может вызвать два повреждения, необходимых для образования двухударных аберраций.

Рентгеновские и  $\gamma$ -лучи относятся к излучениям с низкой ЛПЭ (редкоионизирующие). К плотноионизирующим излучениям (высокая ЛПЭ) причисляют облучения нейтронами, протонами,  $\alpha$ -частицами и др. Быстрые нейтроны, энергия которых велика (порядка 15 МэВ и выше) характеризуются менее плотной ионизацией, чем промежуточные и медленные нейтроны, отличающиеся более высокой ЛПЭ.

Биологическая эффективность ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ в 2 раза выше  $\gamma$ - и рентгеновских лучей. Ионизирующие лучи с высокой ЛПЭ отличаются от  $\gamma$ - и рентгеновских лучей также и по некоторым другим эффектам. Они индуцируют относительно больше обменов хромосом. Воздействие нейтронов на клетки в  $G_0/G_1$  стадиях интерфазы клеточного цикла приводит к появлению значительного количества аберраций хроматидного типа.

Следует отметить, что ионы с низкой энергией в 100–1000 раз менее эффективны в образовании разрывов ДНК, чем ионы с высокой энергией.

Таким образом, при рентгеновском и  $\gamma$ -облучении, а также при воздействии быстрыми нейтронами число одноударных аберраций хромосомного типа (парные фрагменты) увеличиваются с повышением дозы линейно, двухударных аберрации (дицентрики и кольца) – возрастает примерно в квадратичной или степенной зависимости от дозы. При облучении нейтронами высоких энергий, частота парных фрагментов, дицентрических и кольцевых хромосом повышается линейно с дозой.

Экспериментальными данными было установлено, что различий между числом аберраций хромосом в условиях *in vitro* и *in vivo* не наблюдается. Эти данные послужили основой для использования кривых доза–эффект, полученных в исследованиях *in vitro*, в качестве калибровочных при оценке величины поглощенной дозы у случайно облученных людей. Чаще используют калибровочную кривую, описывающую выход наиболее точно учитываемых аберраций - дицентриков и колец. Использование частоты дицентриков и кольцевых хромосом обусловлено их более легкой идентификацией. Однако, с помощью этого типа аберраций возможна оценка только больших доз облучения. Поэтому, кроме этого критерия используют дополнительные цитогенетические показатели: общую частоту аберраций хромосом и процент aberrантных клеток. В комплексе эти показатели позволяют оценить дозу радиации при достаточно низких уровнях облучения.

Расчет доз по калибровочным кривым у пострадавших от облучения лиц может быть надежно осуществлен лишь при относительно равномерном облучении организма. Например, частота дицентриков при тотальном облучении в дозе 100Р невелика, однако при облучении 10% туловища в дозе 1000Р она возрастает не в 10, а в 100 раз. Дицентрики распределяются по клеткам согласно закону Пуассона. При неравномерном облучении характер распределения дицентриков по клеткам может быть иным.

В настоящее время для биологической дозиметрии широко используют анализ нестабильных аберраций хромосом (дицентрики, центрические и ацентрические кольца) в лимфоцитах периферической крови, позволяющий оценить уровень поглощенной дозы непосредственно после облучения или его начало, а также для определения индивидуальной дозы у конкретного человека.

## Литература

1. Гептнер М. А. Зависимость мутирования определенных генов от их положения в хромосоме // Биол. журнал. 1938. Т.7, № 5/6. С.1121-1138.
2. Горни А.И., Ермаков А.В., Спитковский Д.М., Выявление пострепарационных повреждений ДНК и неравномерность их распределения во фракциях метафазных хромосом, различающихся по размеру.// Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1986, Т. 101, №9. С. 279 - 281.
3. Грачева Л. М., Королев В. Г. Генетические эффекты распада радионуклидов в клетках . - М.: Атомиздат, 1977.
4. Дубинин Н. П. Молекулярная генетика и действие излучений на наследственность. - М.: Атомиздат, 1963.
5. Жербин Е. А., Комар В. Е., Хаксон К. П., Чухловин А. Б. Радиация, молекулы и клетки. - М.: Знание, 1984.
6. Лучник Н. В. Образование aberrаций хромосом при облучении клеток на разных стадиях клеточного цикла //Радиобиология. 1973, Т.13., Вып. 2. С.163-177.
7. Сингер М., Берг П. Гены и геномы: В 2-х т. - М.: Мир, 1998. - 373 с.
8. Соيفер В. Н., Акифьев А. П. Молекулярные механизмы образования хромосомных перестроек // Общ. биология. 1976. Т.37, № 6. С.854-869.
9. Филюшкин И. В., Хандогина Е. К. Дозовые зависимости выхода радиационно-индуцированных хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека *in vitro* и их микродозиметрический анализ / 3 Всесоюзн. совещ. по микродозиметрии. 1979. Тез. докл.- М., 1978. С. 118-119.
10. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: В 3-х т. Т. 2 - М.: Мир, 1990. - С.249-264.
11. Шальнов М. И. Радиобиологические эффекты, связанные с повреждением нуклеиновых кислот //Первичные радиобиологические процессы. - М., 1973. С. 275 - 322.
12. Frisman E., Zarubina O. Effect of  $\gamma$ -irradiation on the conformation of the native DNA molecule. /Phys. Chem., 1993, V.46. P. 37-47.
13. Howard A., Pele S. R. Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cell and its relation to chromosome breakage. / Heredity, 1953, V. 6. P.261-273.
14. Volpe P., Parasassi T., Saporita O., Ravagnan G., Eremenko T. Influence of low doses of radiation on the DNA double helix, gene expression and membranal state. / International Journal of Radiation Medicine 1999. Vol.1, № 1. P. 78 - 89.