УДК 575.1+614.876

Моссэ И.Б.

ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ У ЧЕЛОВЕКА

Определение генетических эффектов ионизирующей радиации у человека с помощью биодозиметрии затруднено по многим причинам – радиочувствительность особей различается генетически и, кроме того, многие неконтролируемые факторы способны ее модифицировать. Это радиопротекторы и сенсибилизаторы, находящиеся в нашей пище, нервно-психическое и гормональное состояния, лекарственные препараты, вирусные и другие заболевания, адаптивный ответ и т. д. Все эти факторы могут быть ответственными за существенные ошибки биодозиметрии при определении индивидуальных доз.

***Ключевые слова**: биодозиметрия, радиочувствительность, генетические методы, радиопротекторы, сенсибилизаторы, адаптивный ответ.*

Визначення генетичних ефектів іонізуючої радіації в людині за допомогою біодозиметрії ускладнено за багатьма причинами – радіочутливість особин відрізняється генетично і, крім того, більшість неконтрольованих факторів здатні її модифікувати. Це радіопротектори та сенсибілізатори, які знаходяться в нашій їжі, нервово-психічний та гормональний стани, лікарські препарати, вірусні та інші захворювання, адаптивна відповідь і т. ін. Усі ці фактори можуть бути відповідальними за суттєві помилки біодозиметрії при визначенні індивідуальних доз.

***Ключові слова**: біодозиметрія, радіочутливість, генетичні методи, радіопротектори, сенсибілізатори, адаптивна відповідь.*

Humans have different genetic radiosensitivity and this parameter is genetically determined. Many factors which are not under control can change significantly biological effects of radiation. Some of substances are present in our food – residual amounts of fertilizers or herbicides can be mutagenic or influence mutagenic action of radiation. In the last case synergetic or antagonistic effects can be observed. In the same time many food stuffs contain radioprotectors or antimutagens. Some drugs, stress, virus diseases and so on can change biological effects of radiation too. Radioadaptive response is one of the most significant factors which can be responsible for incorrect radiation dose evaluation. All these uncontrolled factors may be responsible for significant mistakes of evaluating individual radiation dose by biological methods.

***Key words**: radiosensitivity, genetic methods, radioprotector, sensibilizator, adaptive response.*

Оценку генетических эффектов ионизирующей радиации у человека обычно производят с помощью биологической дозиметрии, которую осуществляют генетическими методами – путем анализа хромосомных аберраций как нестабильных (рутинный метод), так и стабильных (методы дифференциального окрашивания хромосом).

Основным методом биодозиметрии является анализ цитогенетических повреждений в культивируемых клетках человека (обычно лимфоцитах периферической крови). При облучении клеток одного и того же донора *in vitro* наблюдается строгая зависимость частоты аберраций от дозы радиации. Это дало основание для использования данного критерия в целях биодозиметрии. Однако исследования *in vivo* оказались отличными от таковых *in vitro,* и результаты биодозиметрии часто не совпадают с дозами, зафиксированными документально по показаниям дозиметров.

Например, при сравнении результатов цитогенетической дозиметрии с дозами, полученными согласно документов, ликвидаторами Чернобыльской

аварии, расхождения наблюдаются почти в 70 % случаев [1]. При этом авторы склонны считать более достоверной информацию, полученную с помощью биологических методов, и делают вывод о неправильном вычислении дозовых нагрузок [1], забывая о генетических различиях индивидуумов.

Известно, что особи не только одного и того же вида, но даже одной и той же популяции могут значительно различаться по радиочувствительности. С точки зрения генетики радиочувствительность является одним из количественных признаков, таких как рост, вес, плодовитость и т. д. Одной из особенностей количественных признаков является то, что распределение их численных значений в популяции представляет собой колоколообразную кривую [2]. Для большинства особей характерны промежуточные значения признака, и лишь у небольшой части особей обнаруживаются крайние его значения. Математическая кривая, имеющая такую колоколообразную форму, отражает нормальное (или биномиальное) распределение (рис. 1). При этом 50 % популяции попадает в зону среднего значения признака $x \pm 0{,}67s$, 95 % выборки (или популяции) находится в интервале $x \pm 1{,}96s$ и только 5 % популяции оказываются в пределах от $x \pm 1{,}96s$ до $x \pm 3s$ и разделяются на сверхчувствительную фракцию (2,5 %) и сверхрезистентную (тоже 2,5 %). Это значит, что чем значение признака дальше от среднего, тем для меньшей доли популяции оно характерно.

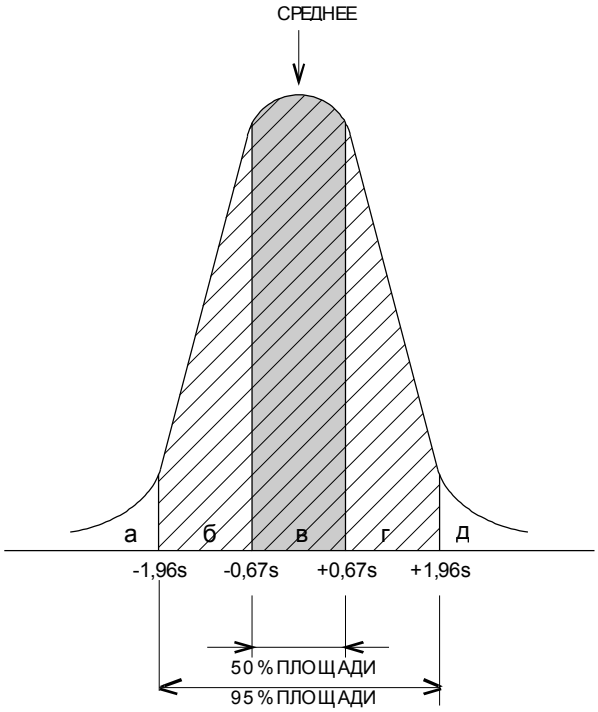

Рис. 1. Нормальное распределение количественных признаков в популяции

Наличие сверхчувствительной фракции в популяциях клеток и организмов объясняет противоречивые мнения относительно наличия порога биологического действия ионизирующей радиации. Действительно, если исследуются небольшие выборки из популяций или используются не очень чувствительные тесты, то кажущийся порог в действии облучения выявляется на рубеже перехода от сверхчувствительной когорты, величиной в 2,5 %, к менее чувствительной части популяции, составляющей 97,5 %. Чем чувствительней тесты и чем больше объем анализируемой выборки, тем при более низких дозах удается обнаружить биологические (в частности генетические) эффекты облучения, что свидетельствует об отсутствии порога в генетическом действии радиации.

Ясно, что малочисленная сверхчувствительная фракция в популяциях страдает раньше всех других от загрязнения окружающей среды радионуклидами, так же как и другими повреждающими агентами. Что касается популяций человека, то очевидно, это и есть та дань, которую человечество платит за цивилизацию.

В качестве вывода можно привести слова C. Mothersill et al: «Clearly, genetic predisposition is crucial and may even be more important than dose». («Ясно, что генетическая предрасположенность является решающей и может быть даже более важной, чем доза») [3].

Генетические и негенетические факторы, определяющие радиочувствительность.

Наследственные различия особей по радиочувствительности, как и по другим количественным признакам, обусловлены взаимодействием нескольких пар полимерных генов, определяющих целый ряд физиологических и биохимических особенностей организма. Например, генотипы различаются по содержанию в клетках ауторадиопротекторов и аутоантимутагенов, таких как эндогенные антиоксиданты и серусодержащие вещества, находящиеся в клетках или синте-

зирующиеся в них под влиянием облучения; по уровню репаративных процессов и т. д. Поэтому особи отвечают на воздействие облучения в одной и той же дозе по-разному.

Огромное количество факторов влияет на результаты радиационных воздействий на уровне организма, среди которых состояние биохимических и физиологических систем, наличие наследственных болезней, отбор гамет и зигот и т. д. [4].

Ряд веществ могут ускорять или замедлять клеточный цикл, способствовать перескакиванию клеток во второй или даже в третий митоз. При этом частота аберраций снижается в несколько раз, что резко искажает результаты биодозиметрии.

При хроническом облучении добавляются такие популяционные процессы, как, например, элиминация повреждений в ходе обычного обновления клеточного состава, причем преимущественно элиминируются клетки с нарушениями. При этом в популяциях могут происходить разнонаправленные процессы. С одной стороны, происходит адаптация – отбор и размножение клеток с более резистентным генотипом, что приводит к снижению радиочувствительности популяции. Эти процессы хорошо известны для всех типов популяций клеток и организмов. С другой стороны, возможно возникновение генетической нестабильности, приводящей к возрастанию частоты генетических нарушений в следующих поколениях. Таким образом, даже при использовании специальных калибровочных кривых мы не можем быть застрахованы от серьезных ошибок при определении индивидуальных дозовых нагрузок.

Кроме того, формирование неспецифической резистентности популяций – это общая закономерность, проявляющаяся при длительных воздействиях самых разнообразных экологических и антропогенных факторов. Это явление необходимо учитывать при оценке генетических эффектов загрязнения окружающей среды. Популяции лимфоцитов человека состоят из клеток с разной чувствительностью, причем менее резистентные клетки быстрее элиминируются при хронических воздействиях мутагенных факторов, что приводит к повышению устойчивости популяции лимфоцитов и занижению результатов мониторинга с использованием этого метода. Необходимо также учитывать, что значительная часть аберраций элиминируется при смене клеточного состава крови.

Учет популяционно-генетических аспектов очень важен для вычисления индивидуального радиационного риска. Например, при лечении злокачественных заболеваний, таких как раковые опухоли, и особенно при лейкозах, необходимо очень точно определить дозы радиационно-терапевтического воздействия. Эффективные дозы для разных лиц могут различаться очень сильно, а ошибки могут привести к летальному исходу.

Все перечисленные явления детерминированы генетически. В то же время радиочувствительность, как и все другие количественные признаки, в большой степени зависит и от факторов внешней среды. Хромосомные аберрации могут быть следствием не только облучения, но и других неконтролируемых мутагенных воздействий. При этом возможны не только аддитивные эффекты, но и синергические, что приведет к резкому завышению оценки радиационной дозы.

Ряд химических веществ, не обладающих мутагенным эффектом, тоже способны усиливать цитогенетические эффекты ионизирующих излучений. Например, нами показано, что нитрит и нитрат натрия, которые широко используются в качестве удобрений и остаточные количества которых находятся во многих сельскохозяйственных продуктах, усиливают мутагенное действие радиации, хотя сами не являются мутагенами – наблюдается эффект сенсибилизации [5].

Наличие в пищевых продуктах остаточных количеств гербицидов также может повлиять на уровень аберраций в клетках человека. Так, мы исследовали влияние гербицида зенкора на мутагенное действие ионизирующей радиации. Оказалось, что это вещество обладает слабой мутагенной активностью. Однако при сочетании зенкора с облучением наблюдается эффект антагонизма – частота мутаций оказывается ниже ожидаемой суммарной величины [6].

В то же время многие пищевые продукты содержат антимутагены, снижающие эффект облучения. Поэтому на радиорезистентность влияет рацион питания: пища, богатая витаминами, микроэлементами, адаптогенами и т. д. способствует повышению радиорезистентности. Многие пищевые продукты содержат антимутагены. Например, чай, кофе, какао, шоколад, грибы, черный виноград, черная икра и т. д. содержат пигмент меланин, который эффективно снижает выход генетических повреждений, вызываемых облучением в половых и соматических клетках и в том числе в лимфоцитах человека [7]. Антимутагенными свойствами обладает токоферол (витамин Е) и другие природные антиоксиданты [8]. Все они могут снижать частоту мутаций, индуцированных ионизирующей радиацией.

Кроме условий питания, на уровень радиочувствительности влияют двигательная активность, нервно-психическое состояние, гормональный баланс, наличие заболеваний негенетической природы и т. п. Безусловно, и прием лекарственных препаратов, и многие другие факторы, воздействующие на организм, могут существенно изменить его радиочувствительность в данный конкретный момент.

Экспериментатор не в состоянии учесть не только генетические особенности человека, но зачастую и образ его жизни, наличие в его рационе радиопротекторов или радиосенсибилизаторов, психологическое состояние пациента и т.п. Ряд веществ могут ускорять или замедлять клеточный цикл, способствовать перескакиванию клеток во второй или даже в третий митоз, что резко меняет результаты биодозиметрии.

Таким образом, на организм влияют самые разнообразные неконтролируемые факторы, которые изменяют результаты биодозиметрического исследования и усугубляют различия между особями, обусловленные генетически. Поэтому результаты определения радиационных нагрузок с помощью цитогенетических методов могут быть искажены как в сторону завышения, так и в сторону занижения в зависимости от рациона питания человека.

Влияние адаптивного ответа

Существенное влияние на результаты биодозиметрии может оказывать адаптивный ответ. Этот феномен является неспецифическим, т. е. слабое химическое воздействие делает организм более устойчивым к последующему воздействию ионизирующей радиации и наоборот. Радиоадаптивный ответ может быть вызван самыми разнообразными факторами, включая вирусные инфекции, стрессы, пищевые добавки и т. д. При этом адаптирующий агент не вызывает цитогенетических эффектов. Следовательно, если перед облучением организм испытал на себе адаптирующее воздействие, то регистрируемая частота хромосомных аберраций, вызванных радиацией, может оказаться в два раза ниже, чем в случае, если бы этого воздействия не было. Проконтролировать такие артефакты практически невозможно.

Положение осложняется еще и тем, что проявление адаптивного ответа также зависит от других влияющих на организм факторов. Так нами изучено влияние различных химических веществ на радиоадаптивную реакцию в половых и соматических клетках мышей. Обнаружено, что если перед адаптирующей дозой ввести в организм меланин, то адаптивный ответ не проявляется [9].

Известно, что адаптивный ответ связан со стимуляцией репарационных процессов в клетке адаптирующим агентом. При этом действие повреждающей дозы приходится на состояние повышенной радиорезистентности клетки. Выступая в роли буфера, меланин снимает действие малой дозы радиации, предотвращая адаптивный ответ. Если же ввести меланин между адаптирующей и повреждающей дозами, то проявляется и защитный эффект меланина, и радиоадаптивная реакция, в результате чего частота генетических нарушений снижается практически до контрольного уровня [9].

Маскировать адаптивный эффект способен и токоферол, но, в отличие от меланина, его действие основано на стимуляции репарационных процессов в клетке, т. е. он влияет на те же системы, что и адаптирующая доза. Поэтому их совместное действие не приводит к усилению эффекта [9].

В то же время слабые мутагены, такие как исследованный нами гербицид зенкор, подавляют проявление радиоадаптивной реакции, возможно ингибируя репарационные процессы [9].

Из всех биологических показателей наименее подвержены модификациям генетические параметры, но и разные генетические тесты отличаются по лабильности. Понимая несовершенство цитогенетических методов, исследователи разрабатывают способы анализа генных мутаций у человека, однако генные мутации также могут быть микроаберрациями. Тем не менее, даже повреждения на уровне ДНК не всегда полностью адекватны поглощенной дозе радиации, поскольку возможна миграция энергии с ДНК на протектор, если он находится на расстоянии не более 100 ангстрем. В клетке работают такие мощные модификаторы, как репарационные ферменты и радиоадаптивный ответ. Происходит амплификация генов, ответственных за радиоустойчивость, включение мобильных генетических элементов и пр.

При оценке средних и коллективных доз, полученных популяциями, подвергающимися облучению (например, населением, проживающим на загрязненных радионуклидами территориях), можно полагать, что влияние всех перечисленных факторов усредняется, поэтому использование существующих методов биодозиметрии в этом случае может быть вполне корректным. Однако при определении этими методами индивидуальных доз могут возникать существенные ошибки, что диктует необходимость разработки более совершенных способов оценки генетических эффектов ионизирующей радиации у человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мазник Н.А., Винников В.А., Суханская М.М., Теплая В.А. Цитогенетическая биодозиметрия у лиц Чернобыльского контингента // Проблемы радиационной генетики на рубеже веков. Межд. конф. Москва. 20-24 ноября 2000 г. – С. 293.
2. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. – М.: Мир, 1988. – Т. 3. – 335 с.
3. Mothersill C., Seymour C. Relevance of radiation-induced bystander effects for environmental risk assessment // Radiation Research. – 2001. – V. 155. – № 6. Review. – P. 759-767.
4. Моссэ И.Б. Радиация и наследственность. – Мн.: Университетское, 1990. – 205 с.
5. Маленченко А.Ф., Сушко С.Н., Савченко В.К., Моссэ И.Б. Генетические эффекты комбинированного воздействия нитрита, нитрата натрия и рентгеновского излучения у животных // ДАН БССР. – 1984. – Т. 28. – № 2. – С. 174-178.
6. Mosse I., Plotnikova S., Kostrova L. Genetic effects of combined action of herbicide zencor and radiation // Proc. of Conference of MAB National Committees of Europe and North America (EUROMAB VI), 16-20 Sept. 1997, Minsk, Belarus, UNESCO. – Minsk, 1998. – P. 185-190.
7. Моссэ И.Б., Кострова Л.Н., Дубовик В.Б, Плотникова С.И., Молофей В.П. Влияние меланина на мутагенное действие хронического облучения и адаптивный ответ у мышей // Радиобиология и радиоэкология. – 1999. – Т. 39. – № 2-3. – С. 329-333.
8. Mosse I.B., Kostrova L.N., Subbot S.T., Maksimenya I., Molophei V.P. Melanin decreases clastogenic effects of ionizing radiation in human and mouse somatic cells and modifies the radioadaptive response // Radiation and Envir. Biophysics. – 2000. – V. 39. – N 1 – P. 47-52.

9. Кострова Л.Н., Молофей В.П., Моссэ И.Б., Плотникова С.И. Способность некоторых радиопротекторов маскировать проявление адаптивного ответа в половых и соматических клетках мышей // Экологическая антропология. – 1999. – С. 328-330.

Рецензенти: Гродзинський Д.М., академік НАН України, д.б.н.
Корольов В.Г., д.б.н., професор, директор Санкт-Петербурзького НДІ ЛІЯФ

© Моссе І.Б., 2009

Стаття надійшла: 17.03.2009 р.