

За результатами обстеження хворих на РГЗ під час ад'ювантної ПТ автори [10] дійшли висновку, що допроменева хемотерапія не змінювала радіаційно-індукований вихід стабільних аберацій хромосом *in vivo*, і для рівнів цитогенетичних пошкоджень, викликаних дією хемопрепаратів і наступним опроміненням, визначався суто адитивний ефект. У продовженні цього дослідження взагалі не було знайдено різниці в частоті аберацій хромосом в середині і в кінці курсу ад'ювантної ПТ між групами хворих на РГЗ, які отримували і не отримували хемотерапію [11].

Проте, в умовах лікування хворих на РГЗ за радикальною програмою ПТ із допроменевою хемотерапією спостерігали нижчу частоту радіаційно-індукованих аберацій після курсу опромінення, порівняно із групою без хемотерапії [12]. Така картина загалом збігається із нашим висновком щодо відмінностей динаміки цитогенетичних ефектів під час курсу ПТ між групами хворих «ХТ⁺» і «ХТ⁻», які отримували променево-лікування за радикальною програмою.

При визначенні можливих механізмів впливу хемотерапії на динаміку рівнів цитогенетичних показників під час ПТ слід урахувати дані [10, 13] про те, що дія цитостатиків *in vivo* не змінює ефективності репарації ДНК і вихід АХс_{unst} у лімфоцитах хворих на РГЗ при опроміненні їхньої крові *in vitro*. На фоні такої нездатності змінювати радіочутливість геному, відомо, що протипухлинні цитостатичні препарати, зокрема при введенні *in vivo*, викликають значну активацію апоптозу в зрілих лімфоцитах крові людини [14]. Звідси можна припустити наявність адитивного ефекту щодо індукції апоптотичної загибелі лімфоцитів унаслідок хемотерапевтичного впливу за умов дії радіації, оскільки в такому разі клітини із радіаційно-індукованими цитогенетичними пошкодженнями будуть підлягати негативній селекції порівняно з умовами без допроменевої хемотерапії. Це видається найбільш імовірним механізмом, який спричинив у нашій роботі парадоксальну картину — дещо уповільнене накопичення радіаційно-індукованих АХс_{unst} під час ПТ у хворих групи «ХТ⁺» (тобто, в осіб із більшим мутагенним навантаженням). Даний феномен слід обов'язково враховувати при інтерпретації результатів цитогенетичного моніторингу онкохворих за умов комбінованого лікування.

Отже, можна зробити висновки, що проведення хемотерапії до початку променевого лікування у хворих на РГЗ було асоційованим із незначним підвищенням частоти аберацій хромосомного і хроматидного типів та геномних порушень у лімфоцитах крові пацієнток у допроменевому контролі.

Групова динаміка рівнів радіаційно-неспецифічних показників — рівня аберацій хроматидного типу і геномних порушень — під час променевої терапії не мала істотних відмінностей у хворих з хемотерапією та без неї.

Накопичення частоти радіаційно-індукованих нестабільних аберацій хромосомного типу під час курсу опромінення, зокрема при радикальній програмі променевої терапії, було менш інтенсивним у хворих, які отримували хемотерапію, ніж у осіб без хемотерапевтичного впливу.

Література

1. Wojcik A., Stephan G., Sommer S. et al. // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 160. – P. 677–683.
2. Ainsbury E.A., Livingston G.K., Abbott M.G. et al. // *Ibid.* – 2009. – Vol. 172. – P. 746–752.
3. Вінніков В.А., Мазник Н.О., Сипко Т.С., Пшенічна Н.Д. // *УРЖ.* – 2012. – Т. XX, вун. 2. – С. 136–140.
4. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. IAEA Techn. Report Series № 405.* – Vienna: IAEA, 2001. – 127 p.
5. Kopjar N., Garaj-Vrhovac V., Milas I. // *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* – 2002. – Vol. 22. – P. 13–30.

6. Kopjar N., Milas I., Garaj-Vrhovac V., Gamulin M. // *Clin. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 6. – P. 177–190.
7. Kopjar N., Milas I., Garaj-Vrhovac V., Gamulin M. // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2007. – Vol. 26. – P. 391–399.
8. Sánchez-Subrez P., Ostrosky-Wegman P., Gallegos-Hernández F. et al. // *Mutat. Res.* – 2008. – Vol. 640. – P. 8–15.
9. Resende P.A., Fidalgo C., Alves P.M. et al. // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 31. – P. 75–79.
10. Legal J.D., De Crevoisier R., Lartigau E. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2002. – Vol. 52, № 5. – P. 1186–1195.
11. d'Alesio V., Pacelli R., Durante M. et al. // *Ibid.* – 2003. – Vol. 57, № 3. – P. 732–738.
12. Rigaud O., Guedeney G., Duranton I. et al. // *Mutat. Res.* – 1990. – Vol. 242. – P. 17–23.
13. Rigaud O., Guedeney G., Duranton I. et al. // *Ibid.* – 1990. – Vol. 242. – P. 25–35.
14. Stahnke K., Fulda S., Friesen C. et al. // *Blood.* – 2001. – Vol. 98. – P. 3066–3073.

Л.О. Гайсенюк, Н.О. Мазник, Г.В. Кулініч,
Л.Л. Стадник

ДУ Інститут медичної радіології
ім. С.П. Григор'єва НАМН України, Харків

Цитогенетичні ушкодження при радіаційно-індукованих професійних раках легень у гірників уранових шахт

Cytogenetic lesions at radiation induced occupational lung cancer in uranium miners

Summary. The examination of the group of uranium miners with occupational lung cancer and miners without cancer showed an increased level of radiation induced disorders of the chromosomal apparatus of the cells when compared with the cytogenetic indices of the controls. Reduction in the level of cytogenetic disorders was not observed when the work at the mine was discontinued.

Key words: radiation induced occupational cancer, cytogenetic disorders, chromosome aberrations of chromosomal and chromatide types, genome disorders.

Резюме. Обследование групп горняков урановых шахт, больных профессиональным раком органов дыхания, и горняков без онкопатологии показало повышенный уровень радиационно-индуцированных нарушений хромосомного аппарата клеток по сравнению с цитогенетическими показателями контрольной группы. С прекращением работы на шахтах снижение уровня цитогенетических повреждений не наблюдалось.

Ключевые слова: радиационно-индуцированный профессиональный рак, цитогенетические повреждения, аберации хромосом хромосомного и хроматидного типов, геномные нарушения.

Ключові слова: радіаційно-індукований професійний рак, цитогенетичні ушкодження, аберації хромосом хромосомного та хроматидного типів, геномні порушення.

Сучасні уявлення про етіологію онкологічних захворювань ґрунтуються на теорії екзогенних впливів на людину канцерогенних агентів унаслідок техногенного забруднення довкілля та експозиції ними працюючих на виробництвах. Спостерігається високий ризик виникнення онкологічних захворювань серед працівників канцеронебезпечних підприємств. Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я та Міжнародної організації праці, онкологічна

патологія в популяції у 5–40% хворих викликана впливом виробничих канцерогенних факторів, тобто є виробничо обумовленою патологією [1, 2].

Визнається, що радіаційний вплив, навіть при невеликій дозі опромінення, супроводжується додатковим ризиком появи онкологічних захворювань, а отже — існує радіаційний канцерогенний ризик при найменших дозах опромінення, зокрема у професіоналів, які працюють у сфері дії іонізуючої радіації.

Загальновідомо, що робота в уранових рудниках пов'язана з дією на органи дихання сукупності шкідливих виробничих факторів радіаційного походження: рудничного пилу, що містить довгоживучі радіонукліди уранового ряду, радон та дочірні продукти його розпаду, зовнішнього гамма-випромінення й радіоактивного забруднення, тривалий контакт з якими може призвести до виникнення радіаційно-індукованого раку легень. В умовах поєднаного пилорадіаційного впливу на працюючих в уранових шахтах виникає кумуляція онкогенних ефектів пилового і радіаційного факторів з однонаправленою онкогенною дією на епітелій слизової бронхів [3–5].

Прийнято, що максимальний, але припустимий ризик для працюючих в уранових об'єктах, зокрема для уранових шахт, відповідає вірогідності смерті від онкозахворювань один випадок на 1000 працівників за рік.

Практичний досвід показує, що кількість шахтарів урановидобувних підприємств, які померли від раку легень, у 3–6 разів перевищує очікувану; має місце практично лінійне зростання смертності зі збільшенням кумулятивної радіаційної експозиції. Величина ризику захворюваності на рак легень у гірників уранових шахт за останні 20 років перевищила 6 випадків на 1000 працюючих [6, 7]. Таке положення було підтверджено досвідом роботи Центральної диспансерної комісії ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України». За даними комісії встановлено, що серед гірників уранових шахт смертність від раку легень перевищує очікувану у 6 разів і в 2–3 рази — відповідну величину показника серед населення.

Відомо, що радіаційно-індуковані та спонтанні раки не відрізняються не тільки за клінічним перебігом, але й не мають жодних інших маркерів: біохімічних, морфологічних, які б давали можливість їх відрізнити.

З такого погляду цитогенетичний метод є одним із найчутливіших при детекції та біологічній дозиметрії в діапазоні як великих, так і малих доз, які можуть бути використані при оцінці ризику виникнення радіогенних професійних онкологічних захворювань [8, 9].

Метою дослідження було вивчення цитогенетичної картини структурних та геномних ушкоджень хромосомного апарату клітин при радіаційно-індукованих професійних раках легень у гірників уранових шахт.

При виконанні цитогенетичного дослідження було проведено хромосомний аналіз лімфоцитів периферичної крові 16 гірників уранових шахт урановидобувного підприємства СхідГЗК. У 8 з них встановлено діагноз раку органів дихання, рішенням ЦДК ДУ «ІМР ім. С.П. Григор'єва НАМН України» захворювання визнано професійним. Обстежено також 8 гірників уранових шахт без онкопатології, які склали умовно-контрольну групу. Вік обстежених становив 52–70 років, шкідливий стаж роботи у підземних умовах — 16,0–33,5 року. За результатами реконструктивних оцінок накопичених ефективних та еквівалентних доз на легені отримано дані, що при підземному стажі майже 20 років середні значення накопичених ефективних доз становили близько 570 мЗв, а накопичені еквівалентні дози на легені — близько 2400 мЗв, що не перевищу-

вало припустимих лімітів. Разом з тим в окремих випадках (5 гірників) дози на легені відповідали граничним значенням припустимих доз або перевищували їх.

Цитогенетичне дослідження пацієнтам з професійним раком органів дихання (6 — з раком легень, 1 — з раком гортані) було проведено у термін 1–23 роки після припинення їх професійної діяльності. До моменту проведення цитогенетичного дослідження 6 пацієнтів не отримували протипухлинного лікування, 2 — було проведено променевою терапією.

Без онкологічних захворювань на момент обстеження 8 гірників уранових шахт продовжували працювати в підземних умовах.

Частоти цитогенетичних пошкоджень *in vivo* у професіоналів вивчали методом хромосомного аналізу лімфоцитів крові, культивованих протягом 50 год. Отримані дані порівнювали з лабораторним популяційним віковим контролем.

Препарати аналізували під світловими мікроскопами «Біолам-І» з масляною імерсією. Розпізнання цитогенетичних порушень та контроль клітинного циклу з подальшим визначенням реплікативного індексу проводили з використанням загальноприйнятих критеріїв. При аналізі реестрували весь спектр аберацій хромосом, які розпізнавалися в аберантних клітинах при груповому каріотипуванні. Як аберації хромосомного типу реестрували дисцентричні і поліцентричні хромосоми, конвертуючи кількість поліцентриків у відповідну кількість дисцентриків, центричні кільця, вільні ацентричні хромосомні фрагменти, атипові моноцентрики — транслокації та делетовані хромосоми; хромосомні обміни реестрували залежно від наявності/відсутності супутніх фрагментів. Серед аберацій хроматидного типу визначали хроматидні обміни, хроматидні фрагменти, хроматидні пробіли та ізохроматидні делетції. До геномних порушень відносили неаберантні та аберантні поліплоїди і гіперплоїди. До аналізу включали результати, отримані при стандартному терміні культивування.

При статистичному опрацюванні результатів від кожного обстеженого та в об'єднаних вибірках клітин визначали середні рівні аберантних клітин, кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин. Стандартні похибки середніх рівнів цитогенетичних пошкоджень обчислювали, виходячи з дисперсії поклітинних розподілів аберацій. Відповідність розподілу структурних аберацій хромосом за клітинами статистики Пуассона оцінювали за відношенням дисперсії до середнього та за *u*-тестом Папворта. Вірогідність різниці між середніми значеннями цитогенетичних показників при порівнянні даних від різних донорів визначали за *t*-критерієм Стьюдента для нез'язаних явищ.

Дослідження проводилось під контролем Комітету з медичної етики ДУ «ІМР ім. С.П. Григор'єва НАМН України».

При первинному аналізі отриманих даних виявилось, що в 6 хворих на рак легень, які не отримували спеціального лікування, рівень аберантних клітин відповідав діапазону 1,24–6,88 %, рівень аберацій хромосомного типу — 0,00–2,91 %, хроматидного типу — 1,24–5,41 %. В 1 пацієнта величини зазначених показників становили, відповідно, 5,00 і 9,26 % (за рахунок дисцентриків та центричних кілець із супутніми фрагментами і вільних ацентричних хромосомних фрагментів) та 1,30 %. У 2 гірників, хворих на рак легень, обстежених після променевої терапії, частота аберантних клітин і рівень аберацій хромосомного типу багаторазово перевищували величини показників інших осіб.

Спектр цитогенетичних пошкоджень складався з дисцентриків і центричних кілець із супутніми фрагментами, ди-

центриків і центричних кілець без супутніх фрагментів, вільних ацентричних хромосомних фрагментів, атипичних моноцентриків (транслокації і делегованих хромосом), хроматидних фрагментів, хроматидних обмінів, ізохроматидних делецій, аберантних та неаберантних поліплоїдів і ендореplikацій та гіперплоїдів.

При аналізі цитогенетичних даних у гірників уранових шахт з онкопатологією було виявлено підвищення рівня аберантних клітин та аберацій хромосом майже в 3 рази порівняно з контрольною групою: відповідно $4,33 \pm 0,37$ та $4,66 \pm 0,41$ при контрольних значеннях $1,55 \pm 0,14$ і $1,61 \pm 0,15$ ($p < 0,001$). У випадку аберацій хромосомного типу та дицентриків і центричних кілець із супутніми фрагментами у групі хворих на рак легень також спостерігалось вірогідне зростання частот відповідно в 1,5 і 2,5 рази відносно рівня аналогічних показників контрольної групи: $1,62 \pm 0,24$ і $0,36 \pm 0,14$, в контролі відповідно $0,98 \pm 0,11$ та $0,15 \pm 0,04$ ($p < 0,01$ та $p < 0,05$).

У групі гірників без онкопатології рівень аберантних клітин та аберацій хромосом також у 3 рази перевищував контрольні значення — відповідно $4,51 \pm 0,54$ та $4,64 \pm 0,56$, в контролі $1,55 \pm 0,14$ та $1,61 \pm 0,15$ ($p < 0,001$). У даній групі обстежених спостерігалось також підвищення рівня аберацій хромосомного типу та дицентриків і центричних кілець із супутніми фрагментами відповідно в 1,5 та 2,5 рази відносно рівня відповідних показників контрольної групи: $1,35 \pm 0,37$ та $0,47 \pm 0,18$, в контролі — $0,98 \pm 0,11$ та $0,15 \pm 0,04$ ($p < 0,05$). При зіставленні результатів дослідження у гірників, хворих на рак легень, та у гірників без онкопатології не виявлено жодних вірогідних відмінностей ($p > 0,05$).

В обох групах також простежувалась тенденція до підвищення частоти аберацій хроматидного типу та їх окремих видів. Так, рівень аберацій хроматидного типу у обстежених з онкопатологією перевищував величину показника в контролі в 5 разів, хроматидних фрагментів — у 4 рази, рівень хроматидних обмінів — у 9 разів: відповідно $3,04 \pm 0,32$, $2,30 \pm 0,28$, $0,65 \pm 0,14$, у контролі — $0,62 \pm 0,09$, $0,56 \pm 0,08$, $0,70 \pm 0,04$ ($p < 0,001$). У професіоналів без онкопатології виявлено чотириразове підвищення рівнів зазначених показників: відповідно $2,69 \pm 0,43$, $2,29 \pm 0,39$, $0,27 \pm 0,13$ при вищенаведених контрольних значеннях ($p < 0,05$). Вірогідної різниці між групами гірників, хворих на рак легень та гірників без онкопатології, як і у випадку аберацій хромосомного типу та їх окремих видів, виявлено не було ($p > 0,05$).

У групі хворих на рак легень серед геномних порушень для сумарної частоти поліплоїдів і ендореplikацій виявлено вірогідну різницю із значеннями контрольної групи: відповідно $0,06 \pm 0,05$, $0,32 \pm 0,10$, в контролі — $0,01 \pm 0,01$, $0,07 \pm 0,03$ ($p < 0,01$). А у групі гірників без онкопатології різниця була вірогідною у випадку гіперплоїдів: $0,34 \pm 0,15$ ($p < 0,001$). При порівнянні даних дослідження серед професіоналів з онкопатологією та без неї спостерігали також вірогідну різницю для гіперплоїдів ($p < 0,05$). Наддисперсність поклітинного розподілу аберацій хромосом зумовлена наявністю 2 і більше аберацій на клітину, та збільшення гіперплоїдії свідчить про несприятливу цитогенетичну картину у пацієнтів з онкопатологією.

У двох гірників, хворих на рак легень, обстежених після променевої терапії, при порівнянні результатів цитогенетичного аналізу лімфоцитів крові з контрольними величинами показників виявлено значно підвищений рівень аберантних клітин та аберацій хромосом, відповідно в 20 і 40 разів. Щодо аберацій хромосомного типу та їх окремих видів спостерігалась аналогічна картина. Частота аберацій хромосомного типу переважно зростала за рахунок дицен-

триків і центричних кілець із супутніми фрагментами. Так, у одного обстеженого частота аберацій хромосомного типу перевищувала контрольну в 65 разів, у другого — в 61 раз. В обох професіоналів рівень вільних ацентричних хромосомних фрагментів був вищий за контрольний в 17 разів. Частоти аберацій хроматидного типу в обох випадках потрапляли в середину діапазону індивідуальних значень, який коливався від 0,82 до 5,61 на 100 клітин, у групі хворих на рак легень без проведеного спеціального лікування. В цілому цитогенетична картина у даних пацієнтів була зумовлена як професійним, так і терапевтичним опроміненням з явним переважанням останнього.

Таким чином, при обстеженні груп гірників уранових шахт, хворих на професійний рак органів дихання, та гірників без онкопатології виявлено підвищений рівень радіаційно-індукованих пошкоджень хромосомного апарату клітин порівняно з рівнями цитогенетичних показників контрольної групи. Очікуваного зниження цитогенетичних порушень серед обстежених хворих на рак легень у зв'язку з припиненням роботи на шахтах не виявлено.

Отримані результати відповідають даним інших авторів [9, 10] про наявність певної кореляції частоти хромосомних аберацій з дозою професійного опромінення та розвитком злоякісних новоутворів. У дослідженні [11] показано, що підвищення частоти хромосомних аберацій на 1 % супроводжувалося збільшенням ризику раку у шахтарів уранових шахт на 64 %.

Отже, в обстежених гірників уранових шахт, хворих на професійний рак легень, виявлено підвищений рівень клітин з абераціями хромосом, порівняно з контролем, за рахунок пошкоджень як хромосомного, так і хроматидного типів. Підвищена частота радіаційно-індукованих обмінних аберацій хромосомного типу вказує на вплив радіаційного фактора у професійних умовах. Підвищена частота хроматидних фрагментів, хроматидних обмінів та геномних порушень свідчить про можливий вплив факторів нерадіаційної природи на обстежених професіоналів.

Характер поклітинного розподілу аберацій хромосом, збільшення рівня геномних порушень та відсутність елімінаційного тренду загального рівня аберацій хромосом свідчить про несприятливу цитогенетичну картину у професіоналів з онкопатологією.

Література

1. Кундієв Ю.І., Нагорна А.М., Варивончик Д.В. // *Укр. журн. з проблем мед. праці.* — 2007. — № 3. — С. 16–27.
2. *Епідеміологічний моніторинг та раннє виявлення виробничо обумовленої та професійної онкологічної патології серед працюючого населення в Україні: Метод. рекомендації* / А.М. Нагорна, Д.В. Варивончик, О.М. Ліщишина, Є.Л. Горох. — К., 2006. — 31 с.
3. Гнеушева Г.И., Сауров М.М., Свяховская Н.В., Попова М.П. // *Мед. радиол. и радиац. безопасн.* — 2003. — Т. 48, № 6. — С. 18–21.
4. Малащенко А.В. // *Там же.* — 2010. — Т. 55, № 2. — С. 5–12.
5. Сауров М.М., Гнеушева Г.И. // *Там же.* — 2004. — Т. 49, № 1. — С. 5–13.
6. Гнеушева Г.И., Шалаев И.Л., Глушинский М.В. // *Там же.* — 2004. — Т. 49, № 2. — С. 13–16.
7. Токарская З.Б., Хохлаков В.Ф., Хохлаков В.В. и др. // *Там же.* — 2010. — Т. 55, № 2. — С. 13–32.
8. Демина Э.А. // *Международ. журн. радиац. мед.* — 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 99–100.
9. Bilban M., Bildan-Jakopin C. // *Mutagenesis.* — 2005. — Vol. 20, № 3. — P. 187–191.
10. Hagmar L., Brogger A., Hansteen I.-L. // *Cancer Res.* — 1994. — Vol. 54. — P. 2919–2922.
11. Smerhovsky Z., Landa K., Rossner P. et al. // *Environ. Health Perspect.* — 2001. — Vol. 109, № 1. — P. 41–45.