

КОНТРОЛЬНЫЕ УРОВНИ FISH-РЕГИСТРИРУЕМЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© 2022 г. Е. Е. Ломоносова¹, В. Ю. Нугис^{1,*}, В. А. Никитина¹, М. Г. Козлова¹

¹ Государственный научный Центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна, Москва, Россия

*E-mail: nugisvju@list.ru

Поступила в редакцию 02.02.2022 г.

После доработки 25.04.2022 г.

Принята к публикации 27.04.2022 г.

Представлен обзор сведений, опубликованных в научной литературе и касающихся оценки спонтанных уровней транслокаций, выявляемых с помощью различных методик FISH-окрашивания хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови человека. При использовании одно-, двух- и трехцветных вариантов разными авторами в целом показан существенный рост частоты этих аберраций хромосом с увеличением возраста доноров при отсутствии влияния гендерных различий. Отмечено увеличение выхода транслокаций у злостных курильщиков и, по-видимому, у алкоголиков. Было признано невозможным разделить влияние расы и территориального положения исследовательских лабораторий. При этом страны могут существенно различаться по образу жизни населения, фоновому воздействию ионизирующих излучений и использованным медицинским услугам, в частности, по объему осуществляемых радиационных диагностических исследований. Это ограничивает использование уровней спонтанных повреждений хромосом, установленных с помощью международных исследований, и свидетельствует о желательности иметь соответствующие собственные данные для отдельных популяций. Одновременно следует констатировать ограниченность аналогичных сведений о частотах транслокаций, выявляемых при многоцветном FISH-окрашивании, в контрольных группах людей.

Ключевые слова: культура лимфоцитов периферической крови, FISH-окрашивание, транслокации, контрольные уровни

DOI: 10.31857/S0869803122040075

Цитогенетические методики являются часто используемыми способами биологической индикации дозы. Независимо от их вариантов полученные данных об уровнях аберраций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови в контрольных популяциях всегда было очень важным, так как только на этой основе можно делать выводы относительно как самого факта внешнего генотоксического воздействия, так и оценки его величины, включая облучение. Особенно это актуально в случаях ретроспективной оценки доз и при их низких значениях, о чем, например, говорится в работе [1]. Как известно, в настоящее время, в соответствии с рекомендациями МАГАТЭ, для оценки дозы ионизирующих излучений в отдаленные сроки после экспозиции предлагается использовать различные методы целнохромосомного FISH-окрашивания [2]. При этом наиболее часто применяется так называемый одноцветный вариант данной методики [3]. Таким способом оценивается частота симметричных транслокаций в культурах лимфоцитов периферической

крови. Транслокации относятся к так называемому стабильному типу аберраций хромосом, не представляющих механического препятствия для протекания митоза, и поэтому, как теоретически представляется, имеют тенденцию сохраняться с течением времени после их индукции. Однако при таком одноцветном подходе идентификация перестроек возможна только между FISH-окрашенными и контрольными хромосомами. Обмены между самими FISH-окрашенными хромосомами оказываются неучтенными. Поэтому с целью увеличить число регистрируемых транслокаций, способствовать улучшению оценки радиочувствительности и выявлению сложных перестроек хромосом предложили использовать FISH-окрашивание различных комбинаций отдельных хромосом с помощью разных (2–3) флуоресцентных красителей [4–7]. Также для еще более точного учета и дифференциации различных хромосомных аберраций был разработан и много(мульти)цветный FISH-метод (mFISH), который позволяет после компьютерной обработки

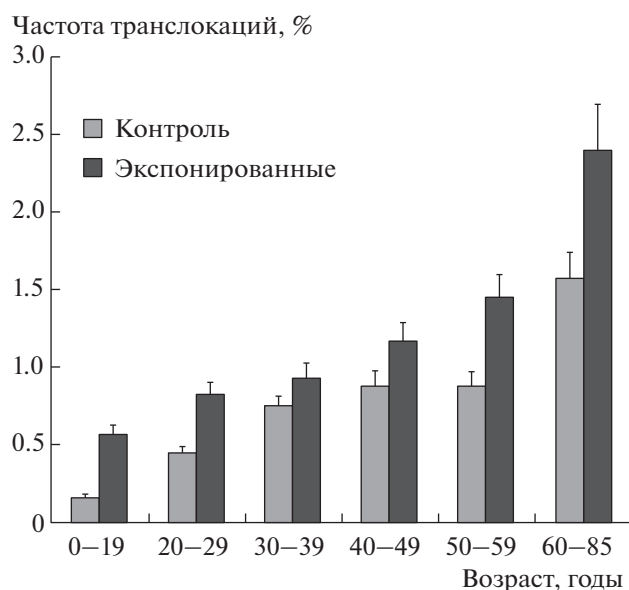


Рис. 1. Возрастная динамика FISH-зарегистрированных транслокаций в экспонированной и контрольной популяциях (рисунок взят из статьи [11]).

Fig. 1. Age dynamics of FISH-registered translocations in the exposed and control populations (the figure is taken from the article [11]).

визуализировать каждую пару хромосом по их окраске [8, 9]. При этом, как указывалось выше, знание спонтанных частот цитогенетических повреждений является крайне важным для установления факта переоблучения и величины полученной дозы, особенно в диапазонах малых и средних доз и при хроническом радиационном воздействии, поскольку исходные уровни перестроек хромосом у отдельных индивидуумов до облучения обычно не известны [10].

ФОНОВЫЕ УРОВНИ FISH-РЕГИСТРИРУЕМЫХ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ ДЛЯ ОДНОЦВЕТНЫХ И ДВУ-ТРЕХЦВЕТНЫХ ВАРИАНТОВ ДНК-ЗОНДОВ

В связи с вышесказанным о недоступности знания исходного количества транслокаций у возможно облученных лиц приходится опираться на их предполагаемые значения, полученные в неких общих исследованиях контрольных контингентов, хотя идеально было бы иметь собственную базу данных, что в принципе достаточно трудоемко [2].

В статье [10] указывается, что необходимо знать факторы, которые могут оказывать возмущающее влияние на фоновые уровни транслокаций, к которым относятся возраст, привычка к курению, кластогенные химические вещества из внешней среды и медикаменты. На 42 здоровых

субъектах в возрасте от 21 года до 73 лет авторы этой работы показали, что пол не влиял на частоту транслокаций (одноцветный FISH для разных наборов ДНК-зондов). Курение даже при ежедневном потреблении больше 30 сигарет, по-видимому, не оказывало существенного воздействия на выход этих aberrаций. Однако наблюдалось явное увеличение числа транслокаций с возрастом: у лиц старше 60 лет их уровень был в 3 раза выше, чем у людей в возрасте до 40 лет. Кроме того, вариабельность частот транслокаций была выражена значительно сильнее при возрасте после 40 лет, чем в более молодой группе. Так, у первых диапазон колебаний составлял частоту 1–6 наблюдаемых транслокаций на 1000 клеток, а у вторых – 0–3.

Возрастная динамика частот FISH-регистрируемых транслокаций была представлена в статье, посвященной сравнению уровней различных типов aberrаций хромосом в экспонированных и контрольных контингентах [11]. Под экспонированными группами понимались ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской АЭС, которые не перенесли ОЛБ; лица (взрослые и дети), эвакуированные с радиационно-загрязненных территорий; работники, предположительно подвергшиеся облучению при их участии в проведении испытаний ядерного оружия, захоронении ядерных отходов, работе на ядерных предприятиях, службе на атомных подводных лодках. Параллельно обследовались люди, не имевшие случайного или профессионального контакта с источниками ионизирующих излучений, и их дети. На рис. 1 приведена диаграмма, взятая из статьи [11] и демонстрирующая возрастающую возрастную динамику геномных частот FISH-зарегистрированных транслокаций (одноцветное окрашивание, разные наборы ДНК-зондов) и в экспонированном (342 человека), и в контрольном (153 обследованных) контингентах. Как можно видеть, частоты транслокаций у экспонированных лиц достоверно превышали контрольные величины в тех же возрастных группах. При этом зависимости возраст–эффект удовлетворительно описывались квадратичными уравнениями в обоих случаях. Отметим, что, судя по визуальному анализу рис. 1, в контроле возрастные группы 40–49 и 50–59, а возможно, и 30–39 лет слабо различались между собой.

В дальнейшем было высказано мнение, что только комбинацией данных, полученных в разных лабораториях, можно получить уточненные сведения о фоновых уровнях транслокаций, разумеется, с переходом на их полногеномную частоту [12]. В самой этой работе было произведено комбинирование данных, полученных в восьми лабораториях: две из Великобритании (55 и 16 доноров – возраст 52–82 и 29–64 года соответственно), две из Германии (71 и 42 донора – возраст

10–74 и 21–73 года соответственно), одна из США (58 доноров – возраст 27–55 лет), одна из Нидерландов (55 доноров – возраст 23–66 лет), одна из Финляндии (119 доноров – возраст 18–70 лет) и одна из Франции (20 доноров – возраст 20–67 лет). В разных лабораториях результаты были получены с помощью различных в основном одноцветных ДНК-зондов (только в одной лаборатории использовали трехцветный набор). Ясное влияние возраста на накопление транслокаций было обнаружено в трех лабораториях. В остальных то же самое наблюдалось с некоторыми отклонениями в виде тенденции. Соответственно объединение данных подтвердило связь между фоновым уровнем транслокаций и возрастом обследованных лиц. При этом имелись некоторые выбросы внутри каждой возрастной группы. Половые различия отсутствовали, но в некоторых группах был зафиксирован эффект от курения. Также высказывалось предположение о возможном влиянии факторов образа жизни на накопление FISH-регистрируемых цитогенетических повреждений и минимальной роли в этом процессе фонового воздействия ионизирующей радиации.

Отдельно и в развитие данного сообщения была опубликована другая статья [13] с включением данных только семи европейских лабораторий: шесть участвовали в предыдущем исследовании и одна (из Испании) была добавлена вместо американской лаборатории. Около половины обследованных лиц принадлежали к контингенту из работы [12]. Однако, если в работе [12] старались различать полные и неполные транслокации, то теперь был сделан вывод о том, что в этом нет необходимости. Также подчеркивалось, что в европейских лабораториях последовательно отбрасывают клетки, в которых наблюдается явное отсутствие части какой-либо из FISH-окрашенных хромосом. При этом отмечалось, что для измерения контрольных уровней не имеет практического значения анализ только стабильных или всех клеток. Достаточно лишь исключить метафазы с транслокациями в нестабильных клетках, число которых в целом очень мало. За единичными исключениями совпадение полученных результатов между различными лабораториями было хорошим. Наблюдалась сильная плавно возрастающая нелинейная по своему характеру связь частот транслокаций с возрастом доноров. Это могло быть вызвано накоплением действия факторов внешней среды, процессами естественного старения или обеими причинами. В 10% всех образцов наблюдались резко выделяющиеся значения большей частью в сторону увеличения, хотя примерно в половине случаев это могло ожидаться и на статистических основаниях. Данные выбросы не имели клонального происхождения, так как обнаруженные четыре клон были скорректированы и сведены к одной клетке в каждом случае.

Убедительные данные относительно влияния пола на фоновую частоту транслокаций получены не были, поскольку только в возрастной группе 30–39 лет у мужчин было значимо больше транслокаций, чем у женщин. Также отсутствовали явные свидетельства влияния статуса курильщика: более высокий уровень перестроек хромосом наблюдался только в двух из восьми (без новорожденных) возрастных групп (30–39 и 60–69 лет), да и то, только при сравнении некурящих и сильно курящих лиц. Это не согласуется с данными работ [14–16], в которых сообщалось о почти 30%-ном возрастании количества транслокаций у курильщиков.

Как продолжение работ [12, 13] был выполнен обширный мета-анализ [17] с использованием цитогенетических данных, полученных 16 лабораториями из Великобритании, Германии, Испании, Канады, Китая, Кореи, Нидерландов, России, Финляндии, Франции, Чехии и Японии на материале 1933 относительно здоровых индивидов в возрасте от 0 (пуповинная кровь новорожденных) до 85 лет. Здесь также использовался пересчет на число геном-эквивалентных клеток, так как применялись разные ДНК-зонды для одноцветного (11 лабораторий), двухцветного (три лаборатории) и трехцветного (три лаборатории) FISH-окрашивания. До сих пор это исследование считается лучшей международной базой данных по FISH-цитогенетическому контролю с учетом возраста, пола, расы, отношения к курению и регионов расположения лабораторий [2].

Как и в предыдущих рассмотренных работах [10–16], возраст оказывается основным фактором, определяющим рост частоты транслокаций. Эта связь почти линейна для молодых людей и приобретает существенную криволинейность в более старшем возрасте. На рис. 2 представлена такая возрастная зависимость для контрольных частот транслокаций, полученная после объединения данных разных лабораторий и взятая из статьи [17].

Возрастные зависимости крайне мало различались у мужчин и женщин, однако существенно модифицировались фактом курения в сторону увеличения частот транслокаций. Последнее обстоятельство входит в противоречие с данными работы [13] по Западной Европе. По контрольным уровням этих стабильных перестроек азиаты не отличались существенно от белой расы, а в культурах лимфоцитов периферической крови представителей черной расы имелось значительно меньше транслокаций, чем у белых. При этом в лабораториях из Азии и Западной Европы частоты транслокаций существенно не отклонялись от североамериканских лабораторий, но в лабораториях из Центральной и Восточной Европы было зарегистрировано больше транслокаций,

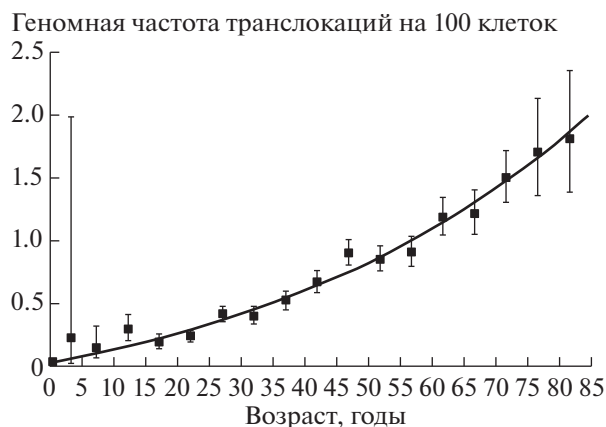


Рис. 2. Зависимость геномной частоты транслокаций на 100 клеток от возраста. Возраст представлен в виде 5-летних средних (квадраты) с 95%-ными доверительными интервалами (рисунок взят из работы [17]).

Fig. 2. Dependence of the genomic frequency of translocations per 100 cells (ordinate axis) from age (years, abscissa axis). Age is presented as 5-year means (squares) with 95% confidence intervals (figure taken from [17]).

чем в других лабораториях. Одновременно для лиц старше 60 лет наименьшие уровни наблюдались в западноевропейских лабораториях, промежуточные — в азиатских и североамериканских лабораториях и наивысшие опять в центрально- и восточноевропейских учреждениях. Соответственно возникали различия и в ходе возрастных зависимостей. Наибольшая кривизна наблюдалась в центрально- и восточноевропейских лабораториях, а в западноевропейских лабораториях эта связь носила практически линейный характер. В целом авторы признают, что, несмотря на обнаруженные расовые и территориальные (лабораторные) различия, их на самом деле очень трудно отличить друг от друга.

Хотя описанное международное исследование [17] объединило данные от большого числа представителей населения, проживающего в разных странах и регионах, однако практическое использование этих сведений порождает проблемы, связанные с различиями в образе жизни, величине естественного радиационного фона, наборе доступных медицинских услуг, особенно в связи с объемом осуществляемых лучевых диагностических исследований [18, 19]. По мнению авторов работы [19], если полученные в какой-либо лаборатории контрольные значения частот транслокаций соответствуют региону, из которого происходят обследуемые люди, то предпочтительно использовать собственные разработки. В случае, если радиационный инцидент произошел в другой стране (местности), применение объединенных международных данных будет более подходящим. Также была высказана мысль, что при получении собственных данных по фоновым частотам

транслокаций количество образцов в каждой возрастной группе не должно быть меньше пяти для сближения показателей с результатами выполненного международного мета-анализа в статье [17].

Заметим, что в статье Bocskay K.A. et al. (2005), в которой с помощью двухцветного FISH-окрашивания производился подсчет транслокаций в культурах лимфоцитов пуповинной крови новорожденных, неожиданно было обнаружено существенно больше перестроек у афроамериканцев, чем у доминиканцев, хотя обе группы на момент обследования проживали в г. Нью-Йорке [20]. При этом гендерные различия отсутствовали. Фактор курения матерей также не влиял на уровень aberrаций хромосом.

В более поздней работе также наблюдалась существенная связь ($r = 0.416$, $p = 0.016$) с возрастом для частоты транслокаций (ДНК-зонды к 1, 4 и 11 парам хромосом) в контрольной группе из 45 человек (18–57 лет), принадлежавших к административному штату АЭС “Козлодуй” (Болгария) [21]. При этом отсутствовала корреляция со статусом курильщика, потреблением кофе, приемом медикаментов, хроническими болезнями, радиологическими медицинскими исследованиями и действием пестицидов, но значимым, хотя и в низкой степени, был эффект от потребления алкоголя.

В некотором противоречии с вышесказанным о возрастной зависимости частот FISH-выявляемых транслокаций находятся данные статьи Hille A. et al. (2010), посвященной сравнению спонтанных выходов aberrаций хромосом с их частотой в группе пациентов, подвергшихся радиотерапии по поводу рака простаты, где транслокации и дицентрики были объединены в одну группу простых обменов [22]. Использовались ДНК-зонды к двум и четырем парам хромосом. Оказалось, что в контрольной группе у трех доноров в возрасте 81–92 года уровень простых обменов варьировал от 0 до 0.6 на 100 клеток, а у доноров в возрасте от 64 до 70 лет (семь человек) — от 0.5 до 1.1 на 100 клеток. Таким образом, в младшей возрастной подгруппе наблюдалось больше перестроек, чем в более старшей, хотя и понятно, что количество обследованных лиц было очень мало.

О кластогенном влиянии алкоголя сообщалось и ранее еще при использовании классической однородной окраски хромосом, например, в работе [23], где был проведен цитогенетический анализ культур лимфоцитов 23 тяжелых алкоголиков в возрасте от 21 до 55 лет и 50 непьющих лиц в возрасте от 18 до 34 лет. В контроле вообще не были обнаружены хромосомные и хроматидные обмены. У алкоголиков больше всего наблюдалось дицентриков, но были зарегистрированы и реципрокные транслокации (атипичные хромосомы). Правда, алкоголики существенно больше

и курили. Поэтому разделить эти два фактора не представлялось возможным. В другой статье [24] наряду с классической окраской использовался и одноцветный метод FISH-окрашивания (ДНК-зонды к 1, 3 и 6 парам хромосом), который продемонстрировал существенно большее число транслокаций у хронических алкоголиков и алкоголиков в стадии воздержания, чем у непьющих лиц. Однако в каждую группу при таком цитогенетическом исследовании входило только по шесть человек. Относительно влияния курения на выход aberrаций хромосом можно судить только по результатам классического анализа, с помощью которого было обследовано 29 алкоголиков, 11 алкоголиков в состоянии воздержания и 10 человек в контрольной группе. Если в контрольной группе у курильщиков частота хромосомных перестроек увеличилась в 4 раза, по сравнению с некурящими индивидуумами, то у курящих алкоголиков их увеличение по сравнению с некурящими было очень незначительным, демонстрируя отсутствие аддитивности действия двух вредных факторов. Такая картина, скорее всего, наблюдалась бы и для FISH-регистрируемых транслокаций. Однако в статье [25] сообщалось об отсутствии влияния курения как на частоту нестабильных aberrаций хромосом (классическая окраска), так и на частоту стабильных перестроек (FISH-окрашивание). Единственным эффектом было увеличение частоты гипердиплоидии у курильщиков.

Относительно влияния хронических заболеваний на уровни реципрокных транслокаций надо заметить, что не все так однозначно, как наблюдалось в работе [21]. Так, с помощью трехцветного FISH-окрашивания (ДНК-зонды для одной, двух и четырех пар хромосом) было показано существенное увеличение количества aberrаций хромосом, представленных в виде числа разрывов на метафазу, у больных злокачественными новообразованиями до проведения радиотерапии по сравнению со здоровыми донорами [26]. Правда, из статьи не ясно, какое лечение эти больные также получали.

ФОНОВЫЕ УРОВНИ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ ПРИ ПОЛНОМ КАРИОТИПИРОВАНИИ С ПОМОЩЬЮ G- и mFISH-МЕТОДИК

mFISH-окрашивание может быть использовано для полного кариотипирования, и в этом отношении рассматривается как подход, дополнительный к методу G-бэндинга, используемому в онкогематологии, хотя мультицветный FISH, по видимому, не имеет такой достаточно высокой степени разрешения, чтобы точно идентифицировать хромосомные регионы, участвующие в той или иной перестройке [8, 27]. В статье Талана О.А.

и др. (2014) дифференциальная G-окраска метафазных хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови была использована для изучения спонтанных уровней aberrаций хромосом, включая реципрокные транслокации, у жителей г. Киева разного возраста – подросткового (10–15 лет), среднего (35–50 лет), пожилого (60–70 лет) и долгожителей (90–100 лет) по 10 человек в каждой группе [28]. Проведенный анализ показал достоверное увеличение с повышением возраста от 10 до 70 лет средних групповых частот разных aberrаций хромосомного типа. У долгожителей уровни перестроек были ниже, чем у лиц пожилого возраста и значимо не отличались от таковых у доноров среднего возраста. Это наглядно представлено диаграммой на рис. 3, взятом из рассматриваемой работы.

Целью другой работы с использованием G-бэндинга для окраски хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови было сравнение частот aberrаций у здоровых доноров в возрасте от 21 до 78 лет, разбитых в соответствии с последним показателем на группы, и у лиц, старше 100 лет [29]. При этом основные выводы были сделаны для “общей частоты всех хромосомных aberrаций”, куда авторы включили анеуплоидию, пробелы и разрывы и структурные аномалии, что с нашей точки зрения не является правильным. К тому же, судя по фотографиям, не все в порядке с терминологией, так как пробелы – это хроматидные фрагменты, а разрывы – это хромосомные фрагменты, но все это тоже является структурными перестройками, а объединять их с количественными (анеуплоидия) не верно из-за разных механизмов их происхождения. В результате был сделан вывод, что в целом с возрастом наблюдается увеличение уровня aberrаций у представителей обоих полов. В трех более молодых группах (25–68 лет) средняя частота aberrаций была существенно (в три раза) выше у женщин, чем у мужчин. В двух более пожилых группах (>68 лет) гендерные различия были несущественны, отражая факт наличия плато в выходе aberrаций у женщин старше 60 лет, причем гиподиплоидия отмечалась как ведущий тип перестроек. Тренды позитивной корреляция между возрастом и стабильными структурными перестройками, к которым отнесли не только транслокации, но и некоторые делеции, были статистически несущественными.

Сведения о контрольных частотах aberrаций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови, обнаруженных с помощью mFISH-метода, значительно более ограничены, чем аналогичные данные, полученные при использовании одноцветного или двух-трехцветного FISH-окрашивания. Собственно говоря, требуемая информация в очень ограниченном виде содержится в работах, в которых проводилось обследо-

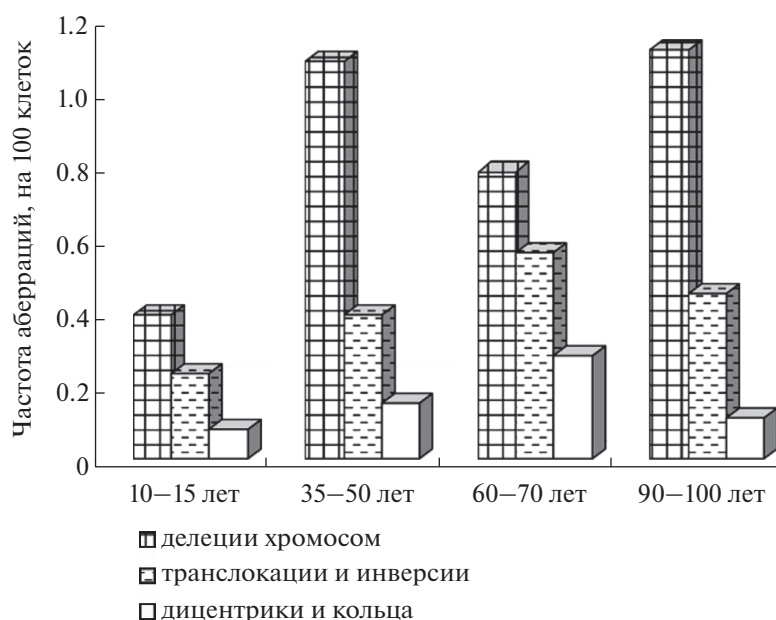


Рис. 3. Стабильные (транслокации и инверсии) и нестабильные (делеции, дицентрики и кольца) aberrации хромосом (G-бэндинг) в культурах лимфоцитов периферической крови у лиц, входящих в разные возрастные группы (рисунок взят из работы [28]).

Fig. 3. Stable (translocations and inversions) and unstable (deletions, dicentrics and rings) chromosome aberrations (G-banding) in peripheral blood lymphocyte cultures of individuals from different age groups (the figure is taken from [28]).

дование каких-либо групп, подвергающихся или подвергавшихся случайному или профессиональному облучению. При этом распределения по возрастным или гендерным подгруппам обычно отсутствовали, так как в контрольной и экспонированной популяциях производился подбор контингентов по соответствию возрастного и полового составов.

Так, одна из статей была посвящена цитогенетической индикации пролонгированного радиационного воздействия у работников ПО “Маяк”. Контрольная группа состояла из 34 жителей близлежащего г. Озерска (30% мужчины) со средним возрастом 77.42 ± 5.85 (\pm среднее квадратичное отклонение), которые никогда не подвергались профессиональному облучению, не участвовали в дезактивационных мероприятиях и не жили на радиоактивно загрязненных территориях. Уровень транслокаций на 100 клеток равнялся примерно 0.6–0.7 (оценка по представленному графику) [30]. Об остальном сказано, что в исследованных группах уровень всех aberrаций не зависел от пола и возраста, а на количество стабильных aberrаций не влияли курение и потребление алкоголя. В другой статье, посвященной цитогенетическому mFISH-обследованию почти тех же контингентов, но с другим числом лиц, вошедших в разработку, контрольная группа в возрасте 62.4 ± 12.5 лет состояла из 15 жителей г. Озерска (восемь мужчин и пять женщин), у которых средняя частота всех aberrаций составила 0.67 ± 0.23

на 100 клеток, включая 1.22 ± 0.41 и 0.13 ± 0.08 стабильных и нестабильных aberrаций соответственно [31].

В другой работе сравнивались частоты хромосомных aberrаций, выявляемых с помощью mFISH-метода, в контрольном контингенте и у моряков (ветераны) с двух новозеландских фрегатов, которые участвовали в серии ядерных испытаний, проводившихся в 1957–1958 гг. британским правительством в Тихом океане [32]. Кровь была взята у 50 бывших моряков (у одного рост лимфоцитов в культуре был неудовлетворительным) и у 50 контрольных лиц (главным образом из армейской интендантской службы). Представители обеих групп географически проживали на Северном Острове Новой Зеландии, а их возраст соответствовал друг другу, составляя в среднем 65.9 и 66.5 лет соответственно. В целом частота хромосомных аномалий была значимо выше у ветеранов (275 транслокаций и 12 дицентриков в 9360 клетках), чем в контроле (96 транслокаций и один дицентрик в 9548 клетках). Вариабельность также была выше у ветеранов по сравнению с контролем: 0–65 и 0–35 транслокаций на 1000 метафаз соответственно, причем контрольная группа была в основном представлена категорией 0–10 транслокаций на 1000 клеток. В неэкспонированном контингенте распределение транслокаций по клеткам показало хорошее согласие с распределением Пуассона. Хотя размер выборки в исследовании не был достаточным для уверенного

утверждения о несоответствии распределению Пуассона распределения транслокаций у ветеранов, но была ясно видна его мультимодальность в соответствии со сложной экспозицией. При планировании исследования старались соблюсти точное соответствие возраста и образа жизни. Таким образом, эти факторы не могли считаться определяющими переменными. Кроме того, не было значительной разницы в нынешнем уровне курения между двумя группами, так как почти все участники в настоящее время не курили. Более высокий уровень курения в прошлом среди ветеранов по сравнению с контрольной группой мог бы, по крайней мере, частично быть ответственен за более высокий уровень транслокаций у ветеранов. Однако уровни транслокаций у курильщиков и не курильщиков в обеих группах существенно не различались, т.е. фактор курения не влиял на частоты обнаруженных транслокаций как у ветеранов, так и в контроле.

Существенное преимущество мультицветного FISH-метода перед его одноцветным, двух- и трехцветными вариантами заключается в большей возможности идентифицировать сложные перестройки хромосом, в частности, при действии плотно ионизирующих излучений [31, 33, 34]. Первично было предложено считать, что они возникают, когда в двух и более хромосомах индуцируется три и более разрыва [34, 35]. Однако некоторые авторы отошли от этого положения и стали считать сложной транслокацией перестройку, возникшую в результате более двух разрывов в двух и более хромосомах [33]. В этой же работе было обнаружено, что частоты сложных aberrаций были значительно выше у бывших работников ПО «Маяк», которые подверглись воздействию плутония, чем у работников, пострадавших только от γ -облучения. Наоборот, частоты простых транслокаций были сравнимы в обеих этих группах. В контрольной группе уровень простых транслокаций был существенно ниже, а сложные aberrации не были обнаружены вообще. Одновременно авторы данной статьи высказываются в том смысле, что сложные транслокации, находящиеся в стабильных клетках, являются передающимися aberrациями при делении клеток и имеют тенденцию элиминировать с течением времени в той же степени, как и простые транслокации, хотя ранее предполагалась неустойчивость любых сложных aberrаций. С этой точкой зрения согласны исследователи, представившие работу [35], в которой предлагается, с одной стороны, суммировать полные и неполные транслокации, а с другой стороны, представлять сложные обмены в стабильных клетках как сумму простых транслокаций.

В то же время, в связи со сказанным выше, возможность нахождения сложных aberrаций в

контроле при использовании mFISH-окрашивания была показана в работе [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в большинстве работ, использовавших от одноцветного до трехцветного вариантов FISH-окрашивания была показана или существенная, или в виде тенденции положительная криволинейная корреляция с возрастом величин частот реципрокных транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови. Одновременно связь с полом в подавляющем большинстве исследований не была обнаружена. Значительно менее однозначны данные о влиянии курения и приема алкоголя на уровни этих aberrаций хромосом. В целом эти вредные привычки оказывают заметный генотоксический эффект, по-видимому, только при существенном злоупотреблении ими. Дифференциация между влиянием расовых и территориальных различий остается нерешенной проблемой, хотя отмечается возможная глобальная роль особенностей образа жизни. Предполагается, что желательнее иметь собственные данные относительно спонтанных уровней реципрокных транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови. При этом возможно и использование в практических целях соответствующих сведений, полученных по результатам международного мета-анализа, осуществленного, например, в работах [13, 17].

Значительно более ограничено количество работ, посвященных оценке с помощью мультицветного FISH-окрашивания количества транслокаций у неэкспонированных контингентов людей, хотя, конечно, сложно ожидать, что могут быть получены какие-либо закономерности, существенно отклоняющиеся от обозначенных выше. С другой стороны, полногеномное mFISH-каротипирование, вероятно, позволит разрешить имеющиеся неопределенности относительно влияния различных факторов на контрольные уровни aberrаций хромосом именно за счет более полного цитогенетического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Darroudi F.* Use of FISH-translocations analyses for retrospective biological dosimetry: how stable are stable chromosome aberrations? // *Radiat. Prot. Dosim.* 2000. V. 88. № 1. P. 101–109. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033013>
2. *Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies.* Vienna: IAEA, Vienna, 2011. 245 p.
3. *Ainsbury E.A., Bakhanova E., Barquinero J.F. et al.* Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation exposures // *Radiat. Prot. Dosim.* 2011. V. 147. № 4. P. 573–592. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncq499>

4. Popp S., Cremer T. Development of a biological dosimeter for translocation scoring based on two-color fluorescence in situ hybridization of chromosome subsets // *J. Radiat. Res.* 1992, V. 33 (Suppl.). P. 61–70. https://doi.org/10.1269/jrr.33.Suppl_1.61
5. Tanaka K., Popp S., Fischer C. et al. Chromosome aberration analysis in atomic bomb survivors and Thorotrast patients using two- and three-colour chromosome painting of chromosomal subsets // *Int. J. Radiat. Biol.* 1996, V. 70, № 1. P. 95–108. <https://doi.org/10.1080/095530096145373>
6. Sommer S., Buraczewska I., Wojewodzka M. et al. The radiation sensitivity of human chromosomes 2, 8 and 14 in peripheral blood lymphocytes of seven donors // *Int. J. Radiat. Biol.* 2005, V. 81, № 10. P. 741–749. <https://doi.org/10.1080/09553000500499381>
7. Distel L., Keller U., Neubauer S. Three-color FISH for the detection of individual radiosensitivity // *Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) – Application Guide* / Ed. T. Liehr. Berlin–Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 231–241.
8. Speicher M.R., Ballard S.G., Ward D.C. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH // *Nat. Genet.* 1996, V. 12, № 4. P. 368–375. <https://doi.org/10.1038/ng0496-368>
9. Anderson R.M., Stevens D.L., Goodhead D.T. M-FISH analysis shows that complex chromosome aberrations induced by α -particle tracks are cumulative products of localized rearrangements // *PNAS.* 2002, V. 99, № 19. P. 12167–12172. <https://doi.org/10.1073/pnas.182426799>
10. Pressl S., Romm H., Ganguly B.B., Stephan G. Experience with FISH-detected translocations as an indicator in retrospective dose reconstructions // *Radiat. Prot. Dosim.* 2000, V. 88, № 1. P. 45–49. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033018>
11. Воробцова И.Е., Семенов А.В. Комплексная цитогенетическая характеристика лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2006, Т. 46, № 2. С. 140–152. [Vorobitsova I.E., Semyonov A.V. Complex cytogenetic characteristic of people suffered from Chernobyl accident // *Radiation biology. Radioecology.* 2006, V. 46, № 2. P. 140–152. (In Russ.)].
12. Sorokine-Durm I., Whitehouse C., Edwards A. The variability of translocation yields amongst control populations // *Radiat. Prot. Dosim.* 2000, V. 88, № 1. P. 93–99. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033026>
13. Whitehouse C.A., Edwards A.A., Tawn E.J. et al. Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations // *Int. J. Radiat. Biol.* 2005, V. 81, № 2. P. 139–145. <https://doi.org/10.1080/09553000500103082>
14. Bothwell A.M., Whitehouse C.A., Tawn E.J. The application of FISH for chromosome aberration analysis in relation to radiation exposure // *Radiat. Prot. Dosim.* 2000, V. 8, № 1. P. 7–14. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033023>
15. Jones I.M., Galick H., Kato P. et al. Three somatic genetic biomarkers and covariates in radiation-exposed Russian cleanup workers of the Chernobyl nuclear reactor 6–13 years after exposure // *Radiat. Res.* 2002, V. 158, № 4. P. 424–442. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)158\[0424:tsbac\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)158[0424:tsbac]2.0.co;2)
16. Tucker J.D. Evaluation of chromosome translocations by FISH for radiation biodosimetry: a view from one laboratory // *Radiat. Prot. Dosim.* 2000, V. 88, № 1. P. 87–92. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033025>
17. Sigurdson A.J., Ha M., Hauptmann M. et al. International study of factors affecting human chromosome translocations // *Mutat. Res.* 2008, V. 652, № 2. P. 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.01.005>
18. Beinke C., Meineke V. High potential for methodical improvements of FISH-based translocation analysis for retrospective radiation biodosimetry // *Health Phys.* 2012, V. 103, № 2. P. 127–132. <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e31824645fb>
19. Grégoire E., Roy L., Buard V. et al. Twenty years of FISH-based translocation analysis for retrospective ionizing radiation biodosimetry // *Int. J. Radiat. Biol.* 2018, V. 94, № 3. P. 248–258. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1427903>
20. Bocskay K.A., Tang D., Orjuela M.A. et al. Chromosomal aberrations in cord blood are associated with prenatal exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005, V. 14, № 2. P. 506–511. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0566>
21. Hristova R., Hadjidekova V., Grigorova M. et al. Chromosome analysis of nuclear power plant workers using fluorescence in situ hybridization and Giemsa assay // *J. Radiat. Res.* 2013, V. 54, № 5. P. 832–839. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrt018>
22. Hille A., Hofman-Hüther H., Kühnle E. et al. Spontaneous and radiation-induced chromosomal instability and persistence of chromosome aberrations after radiotherapy in lymphocytes from prostate cancer patients // *Radiat. Environ. Biophys.* 2010, V. 49, № 1. P. 27–37. <https://doi.org/10.1007/s00411-009-0244-x>
23. Badr F.M., Hussain F.H. Chromosomal aberrations in chronic male alcoholics // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 1982, V. 6, № 1. P. 122–129. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1982.tb05390.x>
24. Burim R.V., Canalle R., Takahashi C.S. et al. Clastogenic effect of ethanol in chronic and abstinent alcoholics // *Mutat. Res.* 2004, V. 560, № 2. P. 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.03.004>
25. Van Diemen P.C., Maasdam D., Vermeulen S. et al. Influence of smoking habits on the frequencies of structural and numerical chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique // *Mutagenesis.* 1995, V. 10, № 6. P. 487–495. <https://doi.org/10.1093/mutage/10.6.487>
26. Distel L.V.R., Neubauer S., Keller U. et al. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients // *Radiother. Oncol.* 2006, V. 81, № 3. P. 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2006.10.012>

27. Cornforth M.N., Anur P., Wang N. et al. Molecular cytogenetics guides massively parallel sequencing of a radiation-induced chromosome translocation in human cells // *Radiat. Res.* 2018. V. 190. № 1. P. 88–97. <https://doi.org/10.1667/RR15053.1>
28. Талан О.А., Шеметун Е.В., Куринный Д.А., Пилинская М.А. Цитогенетическое обследование лиц разного возраста, выполненное с использованием дифференциального G-окрашивания метафазных хромосом // Фактори експериментальної еволюції організмів: 36. наук. пр. 2014. Т. 14. С. 229–231. [Talan O.A., Shemetun O.V., Kurinnyi D.A., Pilinskaya M.A. Cytogenetic examination of people of different ages performed using the G-bending of metaphase chromosomes // *Factors of experimental evolution of organisms.* 2014. V. 14. P. 229–231. (In Russ)].
29. Wojda A., Zietkiewicz E., Mossakowska M. et al. Correlation between the level of cytogenetic aberrations in cultured human lymphocytes and the age and gender of donors // *J. Gerontology.* 2006. V. 61. № 8. P. 763–772. <https://doi.org/10.1093/gerona/61.8.763>
30. Osovets S.V., Sotnik N.V., Meineke V. et al. Threshold limits for biological indication of prolonged radiation exposure using mFISH // *Health Phys.* 2014. V. 106. № 6. P. 677–681. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000057>
31. Sotnik N.V., Osovets S.V., Scherthan H., Azizova T.V. mFISH analysis of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to mixed radiation // *Radiat. Environ. Biophys.* 2014. V. 53. № 2. P. 347–354. <https://doi.org/10.1007/s00411-014-0536-7>
32. Wahab M.A., Nickless E.M., Najar-M'Kacher R. et al. Elevated chromosome translocation frequencies in New Zealand nuclear test veterans // *Cytogenet. Genome Res.* 2008. V. 121. № 2. P. 79–87. <https://doi.org/10.1159/000125832>
33. Hande M.P., Azizova T.V., Burak L.E. et al. Complex chromosome aberrations persist in individuals many years after occupational exposure to densely ionizing radiation: an mFISH study // *Genes, Chromosomes, Cancer.* 2005. V. 44. № 1. P. 1–9. <https://doi.org/10.1002/gcc.20217>
34. Obe G., Pfeiffer P., Savage J.R.K. et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution // *Mutat. Res.* 2002. V. 504. № 1–2. P. 17–36. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(02\)00076-3](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(02)00076-3)
35. Pouzolet F., Roch-Lefevre S., Giraudet A.L. et al. Monitoring translocation by M-FISH and three-color FISH painting techniques: a study of two radiotherapy patients // *J. Radiat. Res.* 2007. V. 48. № 5. P. 425–434. <https://doi.org/10.1269/jrr.07013>
36. Paz N., Hartel C., Nasonova E. et al. Chromosome aberrations in lymphocytes of patients undergoing radon spa therapy: an explorative mFISH study // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2021. V. 18. № 10757. <https://doi.org/10.3390/ijerph182010757>

Control Levels of FISH-Registered Translocations: Literature Review

E. E. Lomonosova^a, V. Yu. Nugis^{a, #}, V. A. Nikitina^a, and M. G. Kozlova^a

^a State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

[#] E-mail: nugisvju@list.ru

This paper presents a review of the information published in the scientific literature and relating to the estimation of spontaneous levels of translocations detected by various methods of FISH-staining of chromosomes in the human peripheral blood lymphocyte cultures. Different authors using single, two and three-color variants are generally indicated by a significant increase of these chromosome aberration frequencies with an increase of donor age and the absence of gender influence. An increase of translocation yield was recorded for persistent smokers and, apparently, alcoholics. It was recognized impossible to divide the effect of the race and the territorial position of research laboratories. At the same time, countries can differ significantly in terms of the lifestyle of the population, the background impact of ionizing radiation and used medical services, in particular, in terms of the volume of implemented radiation diagnostic researches. It limits the use of spontaneous damage levels of chromosomes determined by international studies and indicates desirability to have relevant own data for individual populations. At the same time it is necessary to state the limitation of similar information about the frequencies of translocations detected with multicolored FISH-staining in the control groups of people.

Keywords: peripheral blood lymphocytes culture, FISH-staining, translocations, control levels