

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ЛИЦ РАЗНОГО ВОЗРАСТА, ВЫПОЛНЕННОЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОГО G-ОКРАШИВАНИЯ МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМ

Эффективным методом оценки влияния факторов окружающей среды на организм человека является цитогенетический анализ лимфоцитов периферической крови, позволяющий определить уровень хромосомных нарушений в соматических клетках. Спонтанный уровень аберраций хромосом в лимфоцитах крови человека может варьировать в зависимости от внешних (природный радиационный фон) и внутренних (обмен веществ в организме, гормональный баланс) факторов, изменяющихся в течение жизни [1–3]. Многие научные исследования свидетельствуют, что с увеличением возраста спонтанный уровень аберраций хромосом в лимфоцитах человека может повышаться, что потенциально опасно для здоровья с точки зрения развития онкологической патологии [4–6].

Материал и методы

Материалом цитогенетического исследования были лимфоциты периферической крови лиц разного возраста – подросткового, среднего, пожилого и долгожителей (по 10 человек в каждой возрастной группе), проживающих в г. Киеве.

Лимфоциты крови культивировали согласно стандартной методике [7]. Дифференциальное G-окрашивание препаратов метафазных хромосом выполняли с использованием трипсина и красителя Гимза [8]. Цитогенетический анализ проводили под микроскопом при увеличении $\times 1000$. Учитывали весь спектр аберраций хромосом согласно международной номенклатуре [9]. Анализировали не менее 100 метафазных пластинок на каждого обследованного.

При статистическом анализе данных использовали критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что среднegrupповые частоты аберраций хромосом достоверно повышались с увеличением возраста обследованных лиц от 10 до 70 лет ($p < 0,05$) (рис. 1). У долгожителей (90–100 лет) уровень аберраций хромосом был ниже по сравнению с волонтерами пожилого возраста.

Уровни хромосомных повреждений у долгожителей и лиц среднего возраста достоверно не различались ($p > 0,05$).

Сравнивая полученные результаты с литературными источниками, можно отметить следующее. По данным польских исследователей, которые использовали G-дифференциальное окрашивание метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови здоровых волонтеров в возрасте от 21 до 78 лет, показано повышение всех типов аберраций хромосом с увеличением возраста [10]. В исследованиях В.Г. Илющенко, выполненных при помощи равномерного окрашивания метафазных хромосом, также показано повышение хромосомных аберраций с увеличением возраста (были обследованы волонтеры в возрасте от одного года до ста лет). Однако, максимальные повреждения хромосом в данном исследовании наблюдались в возрасте 90–100 лет [11].

При спонтанном мутационном процессе у подростков, лиц среднего возраста и долгожителей повреждения хроматидного типа встречались с частотами, среднegrupповые значения которых не имели достоверной разницы между собой ($p > 0,05$) и были представлены хроматидными разрывами. У пожилых волонтеров уровень хроматидных аберраций превышал частоты этих повреждений в других возрастных группах ($p < 0,05$). У них зарегистрированы не только хроматидные разрывы, но и обмены.

У обследованных взрослых волонтеров не зарегистрировано статистически значимой разницы между частотами аберраций хромосомного типа ($p > 0,05$) (рис. 2). У подростков их уровень был ниже, чем в других обследованных группах ($p < 0,05$). Среди аберраций хромосомного типа у всех обследованных преобладали делеции хромосом. У подростков они были представлены терминальными повреждениями, а в группах взрослых волонтеров – как терминальными, так и интерстициальными делециями. С увеличением возраста обследованных лиц зарегистрировано накопление транслокаций и инверсий, индуци-

рованное спонтанным мутационным процессом. Во всех возрастных группах частота дицентрических хромосом соответствовала популяционной.

Анализ распределения зарегистрированных разрывов хромосом в кариотипе показал, что во всех группах эухроматиновые участки хромосом повреждались чаще гетерохроматиновых районов.

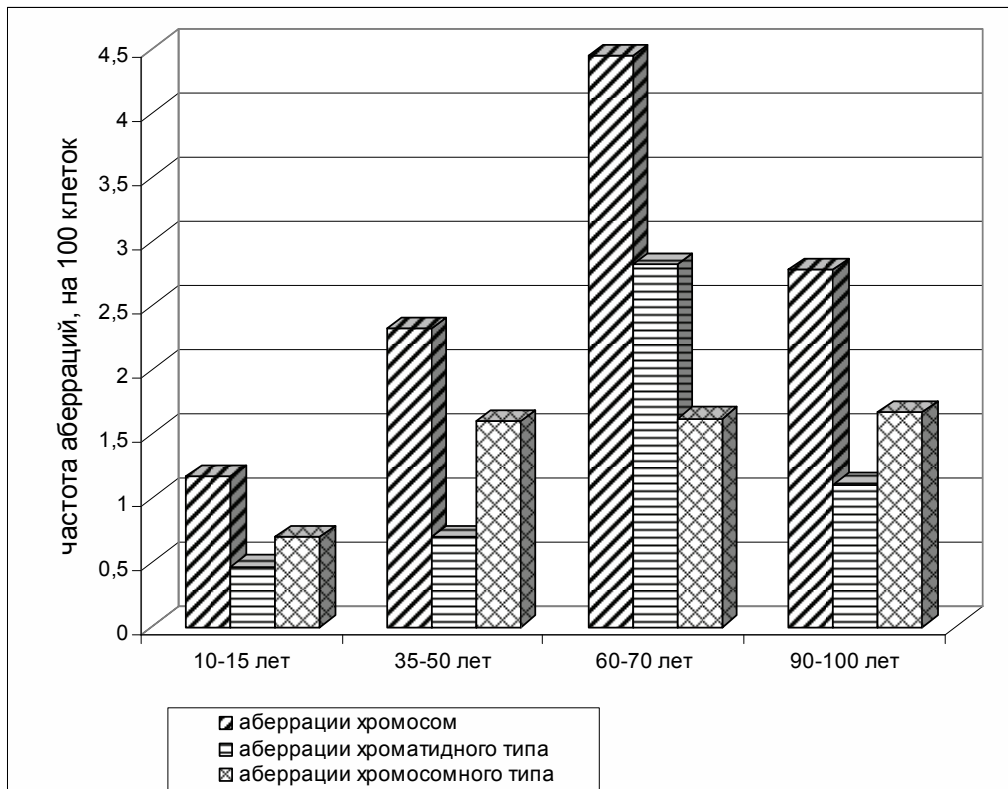


Рис. 1. Основные цитогенетические показатели в лимфоцитах периферической крови лиц разного возраста

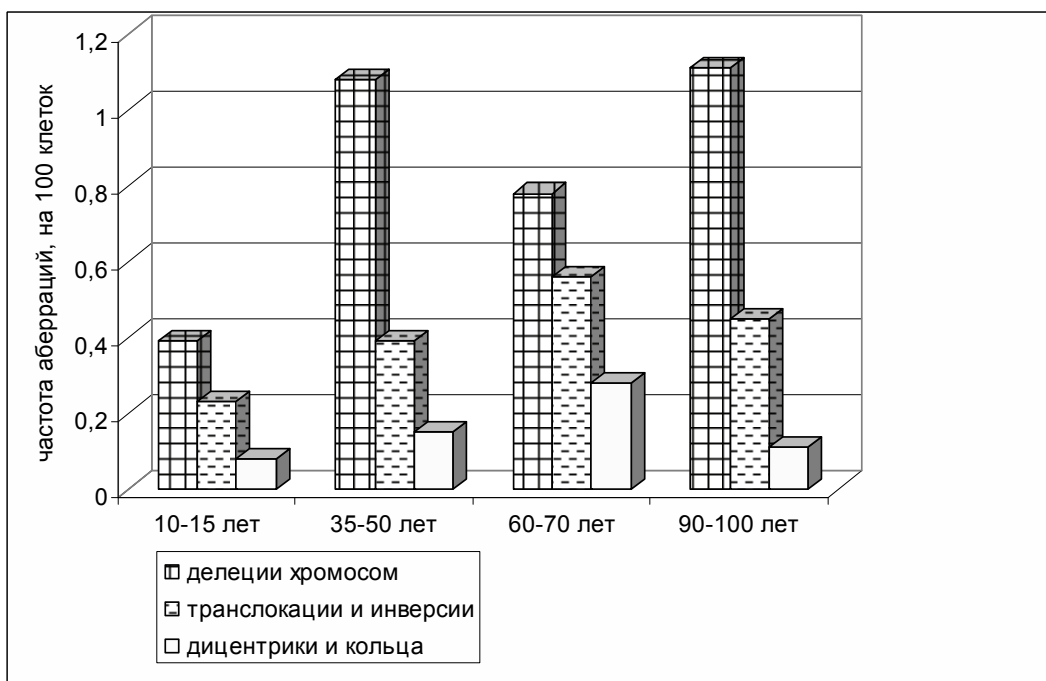


Рис. 2. Стабильные и нестабильные аберрации хромосом в лимфоцитах периферической крови лиц разного возраста

Выводы

С использованием дифференциального G-окрашивания определены частоты aberrаций хромосом в лимфоцитах крови подростков, лиц среднего, пожилого возраста и долгожителей, проживающих в Киеве. Установлено, что при

спонтанном мутационном процессе уровень aberrаций хромосом повышался с увеличением возраста обследованных лиц от 10 до 70 лет ($p < 0,05$). У долгожителей (90–100 лет) частота aberrаций хромосом была ниже, чем у лиц пожилого возраста.

Литература

1. Бочков Н.П., Чеботарёв А.Н., Катосова Л.Д., Платонова В.И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Вестник РАМН. – 2001. – № 2. – С. 21–29.
2. Дьоміна Е.А., Бариліак І.Р., Пілінська М.А. Глосарій з радіаційної цитогенетики // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 125–163.
3. Дёмина Э.А., Пилинская М.А., Петунин Ю.И., Ключин Д.А. Радиационная цитогенетика: русско-английский словарь-справочник – К.: Здоров'я – 2009. – 368 с.
4. Любимова Н.Е., Воробцова И.Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – 47, № 1. – С. 80–85.
5. Erceg P., Milosevic D.P., Despotovic N., Davidovic M. Chromosomal changes in ageing // J. of Genetics. – 2007. – 86, N 3. – P. 277–278.
6. Воробцова И.Е., Семенов А.В. Возрастная динамика частоты спонтанных и индуцированных *in vitro* хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека при естественном и лучевом старении // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – 50, № 3. – С. 253–258.
7. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. – Київ, 2003. – 23 с.
8. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. – 1971. – 2. – P. 971–972.
9. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2013) / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. – Basel: Karger, 2013. – 140 p.
10. Wojda A., Zietkiewicz E., Mossakowska M., Pawlowski W., Skrzypczak K., Witt M. Correlation Between the Level of Cytogenetic Aberrations in Cultured Human Lymphocytes and the Age and Gender of Donors // J. Gerontology. – 2006. – 61, N 8. – P. 763–772.
11. Илющенко В.Г. Классификация спонтанной генотипической клеточной адаптации // Цитология и генетика. – 2002. – 36, № 5. – С. 34–42.

TALAN O.A., SHEMETUN O.V., KURINNYI D.A., PILINSKAYA M.A.

SI “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”,

Ukraine, 04050, Kyiv, Melnikov str., 53, e-mail: okstal@ukr.net

CYTOGENETIC EXAMINATION OF PEOPLE OF DIFFERENT AGES PERFORMED USING THE G-BANDING OF METAPHASE CHROMOSOMES

Aim. To study of spontaneous frequency and spectrum of aberrations chromosomes in peripheral blood lymphocytes conditionally healthy volunteers of different age. **Methods.** Cultivation of peripheral blood lymphocytes received from ten conditionally healthy volunteers during 48 hours; G-banding staining of metaphase chromosome slides; scoring of slides under the microscope (cytogenetic analysis); identification of the full range of chromatid and chromosome aberration types. **Results.** Spontaneous frequencies of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of people in age from 10 to 100 years were determined using G-banding metaphase chromosome staining. The increase of chromosome aberrations frequency from adolescents to middle and elderly persons and lowering of chromosome mutagenesis in somatic cells of centenarians was shown. **Conclusions.** At the spontaneous mutational process of chromosomes aberrations frequency in peripheral blood lymphocytes were increased significantly with increasing age of the surveyed volunteers from 10 to 70 years old. For long-livers frequency of chromosome aberrations was lower than in the elderly one.

Key words: frequency of chromosome aberrations, age, G-banding chromosome staining, human peripheral blood lymphocytes.