

УДК: 576

DOI: 10.35595/2414-9179-2021-4-27-333-346

В.В. Пожарская<sup>1</sup>

## НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

### АННОТАЦИЯ

Данные различных исследователей свидетельствуют о том, что совместные эффекты природных и антропогенных факторов непосредственно влияют на характер территориальной заболеваемости жителей Крайнего Севера. При биомониторинге окружающей среды для оценки степени генотоксичности территорий сравнения широко применяется микроядерный тест на клетках человека. Цель исследований – изучение локальной ситуации с накоплением повреждений в лимфоцитах детей, проживающих в Мурманской области, с помощью микроядерного теста и выявление различий встречаемости двуядерных клеток и клеток с микроядрами, свидетельствующих о дестабилизации генетического материала, в результате действия внешнесредовых факторов и условий проживания.

В результате оценки цитогенетического статуса детского населения, проживающего на территориях сравнения (с. Краснощелье, с. Ловозеро, п.г.т. Умба, г. Апатиты) выявлены специфические территориальные особенности цитогенетического статуса детей, которые вероятно, ассоциированы с преобладающей заболеваемостью на территориях сравнения, и обусловлены особенностями территориальных генотоксических и токсических агентов.

Отмечены достоверные отличия по частоте встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядром у школьников при учете всех клеток (одноядерных, двуядерных, трехядерных, четырехядерных клеток, а также клеток, содержащих более 4 ядер) между с. Краснощелье Ловозерского района, с. Ловозеро ( $U = 45,0$ ,  $p = 0,0009$ ), п.г.т. Умба Терского района ( $U = 91,0$ ,  $p = 0,0125$ ) и г. Апатиты ( $U = 113,0$ ,  $p = 0,0125$ ). Также были отмечены достоверные отличия между частотой встречаемости клеток с микроядрами, среди клеток, не ответивших на митогенный сигнал (одноядерные) и содержащих более 2 ядер в лимфоцитах между подростками с. Краснощелья и населенных пунктов г. Апатиты ( $U = 109,0$ ,  $p = 0,0093$ ) и п.г.т. Умба ( $U = 73,5$ ,  $p = 0,0025$ ).

При сравнении частоты встречаемости всех типов клеток, содержащих микроядра в лимфоцитах подростков, выявлены достоверные различия между частотой встречаемости таких клеток у подростков г. Апатиты и пгт. Умба ( $U = 97,0$ ,  $p = 0,0036$ ).

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лимфоциты, Мурманская область, микроядерный тест, генотоксичность, биомониторинг, дети, школьники, жители Крайнего Севера.

<sup>1</sup> ФГБУН ФИЦ Кольский научный центр РАН, Апатиты, Россия,  
*e-mail: vika\_pozharskaja@mail.ru*

<sup>2</sup> Federal Research Centre «Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences», Apatity, Russia,  
*e-mail: vika\_pozharskaja@mail.ru*

Viktoriya V. Pozharskaya<sup>2</sup>

## GENOME INSTABILITY AS AN INDICATOR OF ENVIRONMENTAL STATE IN THE MURMANSK REGION

### ABSTRACT

The data of various researchers indicate that the combined effects of natural and anthropogenic factors directly affect the nature of the territorial morbidity of the inhabitants of the Far North. In biomonitoring of the environment, a micronucleus test on human cells is widely used to assess the degree of genotoxicity of the comparison areas. The aim of the research is to study the local situation with the accumulation of lesions in the lymphocytes of children living in the Murmansk region using a micronucleus test. As a result of assessing the cytogenetic status of the child population living in the comparison territories (Krasnoshchelye, Lovozero, Uмба, Апатиты), specific territorial features of the cytogenetic status of children were revealed, which are probably associated with the prevailing morbidity in the territories comparisons. This is probably due to territorial genotoxic and toxic agents. Significant differences in the frequency of occurrence of binucleated lymphocytes with micronuclei in schoolchildren were noted when all cells (mononuclear, binuclear, trinuclear, quadrenuclear cells, as well as cells containing more than 4 nuclei) were taken into account between Krasnoshchelye, Lovozero ( $U = 45.0$ ,  $p = 0,0009$ ), Uмба ( $U = 91.0$ ,  $p = 0.0125$ ) and Апатиты ( $U = 113.0$ ,  $p = 0.0125$ ). Also, significant differences were noted between the frequency of occurrence of cells with micronuclei among cells that did not respond to the mitogenic signal (mononuclear) and contain more than 2 nuclei in lymphocytes between adolescents from Krasnoshchelye and Апатиты ( $U = 109.0$ ,  $p = 0.0093$ ) and Uмба ( $U = 73.5$ ,  $p = 0.0025$ ). When comparing the frequency of occurrence of all types of cells containing micronuclei in the lymphocytes of adolescents, significant differences were revealed between the frequency of occurrence of such cells in adolescents from Апатиты and Uмба ( $U = 97.0$ ,  $p = 0.0036$ ).

**KEYWORDS:** lymphocytes, Murmansk region, micronucleus test, genotoxicity, biomonitoring, children, schoolchildren, residents of the Far North.

### ВВЕДЕНИЕ

Население Мурманской области, как и других промышленно-развитых арктических регионов, подвергается воздействию сложного комплекса экстремальных факторов, в котором техногенное загрязнение может существенно усиливать неблагоприятные эффекты природных условий. Данные различных исследователей свидетельствуют о том, что совместные эффекты природных и антропогенных факторов непосредственно влияют на характер территориальной заболеваемости жителей Крайнего Севера [Белишева и др., 2012; Белишева, Петров, 2013; Белишева, 2014; Белишева, Талыкова, 2014; Завадская и др., 2018; Белишева, Мартынова, 2019]. Из всей совокупности неблагоприятных факторов наиболее значимым для здоровья жителей Северо-Западной части Арктики принято считать территориально-специфическое техногенное загрязнение, которое обусловлено не только деятельностью локальных источников промышленных отходов, но и межтерриториальным переносом их токсических компонентов, а природные факторы только усиливают действие антропогенных, поэтому вопрос о характере взаимоотношений между ними в процессе формирования повреждающих или адаптивных ответных реакций в каждом конкретном случае до сих пор остается открытым.

При биомониторинге окружающей среды для оценки степени генотоксичности территорий сравнения широко применяется микроядерный тест на клетках человека [Bonassi et al., 2005; Ингель и др., 1997; Ингель, Ревазова, 1999]. Этот тест на клетках человека характеризуется надежностью получаемых результатов, универсальностью объектов исследования, простотой по сравнению с другими методами определения повреждения ДНК, например, метафазным анализом, и в то же время не уступает им по чувствительности [Горовая, Климкина, 2002; Ингель, 2005; Ингель, 2006]. Выявление территорий наиболее благоприятных с точки зрения генотоксического благополучия позволит наиболее эффективно заниматься профилактикой заболеваний у населения и внедрением методик здоровьесбережения. Цель исследований – изучение локальной ситуации с накоплением повреждений в лимфоцитах детей, проживающих в Мурманской области, с помощью микроядерного теста, и выявление различий встречаемости двуядерных клеток и клеток с микроядрами, свидетельствующих о дестабилизации генетического материала, в результате действия внешнесредовых факторов и условий проживания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В Мурманской области контаминация токсическими и канцерогенными веществами не имеет четкой локализации, и носит градиентный характер, с наибольшими концентрациями вблизи источников загрязнения [Мирецкий и др., 1999; Прозоровский, Скопичев, 2004].

Исследование было проведено в 2018–2020 гг. на территории Мурманской области в четырёх населённых пунктах: г. Апатиты (67°34' N, 33°24' E) Апатито-Кировского района, п.г.т. Умба (66°41' N, 34°20' E) Терского района, в Ловозерском районе – с. Ловозеро (68°02' N, 35°00' E) и с. Краснощелье (67°20' N, 37°02' E). Всего было обследовано более 500 детей в возрасте 3–18 лет.

Исследование проводилось с привлечением здоровых, на момент включения в группы сравнения, детей. Исследование было одобрено советом по Биоэтике ФГБУН НИЦ МБП ФИЦ КНЦ РАН (от 22.01.2018 г.). Согласно принципам медицинской этики, одобренной Генеральной Ассамблеей ООН (1992 г.) и конвенции Совета Европы по биоэтике (1997 г.) родители/опекуны обследуемых детей были ознакомлены с целью и условиями исследования и дали свое письменное согласие на участие своего ребенка в данном исследовании.

Оценку цитогенетического статуса детей проводили на биоматериале (венозная кровь), после интервьюирования обследуемого пациента. Взятие венозной крови проводилось в вакуумные пробирки с гепарином для получения культуры лимфоцитов.

Микроядерный тест проводили на ФГА-стимулированных лимфоцитах цельной периферической крови человека в соответствии с методикой [Fenech et al., 2003; Yager, Sorsa, Selvin, 1988]. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа AXIOSTAR PLUS (Karl Zeiss, Германия) (об. 15 х ок. 40, 100). Долю двуядерных клеток с микроядрами оценивали относительно 1000 двуядерных клеток, цитокинез которых был остановлен цитохалазином В (ЦХВ), т.е. в клетках, проходивших первый митоз между 48 и 72 ч после стимуляции ФГА [Пелевина и др., 2011]. Оценка частоты встречаемости клеток с генетическими и цитологическими нарушениями [Tolbert et al., 1992] проводили на основе анализа не менее 1000 клеток на каждом препарате. На препаратах идентифицировали: одноядерные клетки, все полиядерные клетки без нарушений (одноядерные, двуядерные, трехъядерные, четырехъядерные клетки), все полиядерные клетки с микроядром или несколькими микроядрами, а также ядра с насечкой, вакуолизацию ядра, нарушения типа ядерных почечек и протрузий.

При оценке цитогенетического статуса жителей территорий сравнения с использованием лимфоцитов периферической крови, применялось два метода учета цитогенетических нарушений в культуре лимфоцитов. Первый вариант является классическим протоколом микроядерного теста, при котором учитываются только двуядерные лимфоциты и идентифицируются имеющиеся в них микроядра [Fenech *et al.*, 2003; Kirsch-Volders *et al.*, 2002]. Второй вариант является расширенным, при котором учитываются все клетки лимфоцитов, вне зависимости от плоидности, и идентифицируются микроядра. Решение об использовании расширенного метода подсчета микроядер было принято, поскольку в ряде научных работ показана необходимость учета микроядер в полиядерных клетках при изучении генотоксических эффектов окружающей среды и нестабильности генома человека [Ляпунова, Комарова, 2014; Ингель, 2006].

В соответствии с классическим протоколом микроядерного теста на лимфоцитах крови у испытуемых оценивалось число двуядерных лимфоцитов без микроядра и число двуядерных лимфоцитов с микроядром на 1000 клеток [Fenech, 2007; Fenech, Morley, 1985; Fenech *et al.*, 2003].

Статистический анализ проводили с использованием программного пакета программ STATISTICA 10. В работе оценивали средние арифметические значения исследуемых показателей (M), а также приводили значения стандартной ошибки этих показателей (m). Для сравнения независимых выборок использовали непараметрический критерий Mann-Whitney U, где U – медиана возможных разностей между элементами одной и второй выборки, p – уровень значимости различий, который в данной работе принимали при  $p < 0,05$ . При значении U меньше табличного или равно ему, признается статистическая значимость различий между уровнями признака в рассматриваемых выборках. Достоверность различий тем выше, чем меньше значение U.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови детского населения территорий сравнения (с. Краснощелье, с. Ловозеро, п.г.т. Умба, г. Апатиты) выявила специфические территориальные особенности цитогенетического статуса детей.

Сравнение значимости различий между цитогенетическими нарушениями в лимфоцитах периферической крови у подростков г. Апатиты и с. Краснощелье показал, что у подростков с. Краснощелье содержание двуядерных лимфоцитов с микроядром в 2 раза выше, чем у их сверстников в г. Апатиты (табл. 1).

*Табл. 1. Сравнение значимости различий между цитогенетическими нарушениями (‰) в лимфоцитах периферической крови у подростков г. Апатиты и с. Краснощелье с применением непараметрического критерия значимости различий Колмогорова-Смирнова*

*Table 1. Comparison of the significance of differences between cytogenetic disorders (‰) in peripheral blood lymphocytes in adolescents from Apatity and Krasnoshchelye. Used the nonparametric criterion of the significance of the Kolmogorov-Smirnov differences*

n = 14	р-уров.	Среднее Апатиты	Среднее Краснощелье	Ст. откл. Краснощелье	Ст. откл. Апатиты	Кратность Краснощелье/Апатиты
двуядерный лимфоцит	$p < ,001$	<b>980,70</b>	<b>954,96</b>	<b>7,24</b>	<b>8,23</b>	<b>0,97</b>

двухъядерный лимфоцит с микроядром	<b>p &lt; ,001</b>	<b>10,98</b>	<b>21,88</b>	<b>3,63</b>	<b>4,75</b>	<b>2,0</b>
одноядерный лимфоцит с микроядром	<b>p &lt; ,001</b>	<b>4,57</b>	<b>11,98</b>	<b>3,50</b>	<b>4,82</b>	<b>2,6</b>
трехъядерный лимфоцит с микроядром	p < ,10	0,15	1,35	0,37	1,67	9,31
двухъядерный лимфоцит с протрузией	p > ,10	1,76	2,47	1,64	1,99	1,40
двухъядерный лимфоцит с почкой	<b>p &lt; ,005</b>	<b>0,88</b>	<b>2,70</b>	<b>0,69</b>	<b>2,17</b>	<b>3,1</b>
двухъядерный лимфоцит с насечкой	<b>p &lt; ,001</b>	<b>0,96</b>	<b>4,18</b>	<b>1,92</b>	<b>2,15</b>	<b>4,4</b>

Также у подростков с. Краснощелья по сравнению с подростками из г. Апатиты отмечается повышенное содержание одноядерных лимфоцитов с микроядром, двухъядерных лимфоцитов с почкой, двухъядерных лимфоцитов с насечкой – в 2,6, 3,1, 4,4 раза, соответственно. Такие нарушения в лимфоцитах и их преобладание у детей с. Краснощелья по сравнению с лимфоцитами детей из г. Апатиты могут свидетельствовать об индуцированной геномной нестабильности, которая является основой повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах [Сусков и др., 2006].

Микроядерный тест на лимфоцитах периферической крови школьников по классическому протоколу показал, что частота встречаемости двухъядерных лимфоцитов с микроядром в культуре лимфоцитов подростков с. Ловозеро (Ловозерского района) составляет  $16,8 \pm 1,5\%$ , в п.г.т. Умба (Терского района) –  $15,9 \pm 1,5\%$ , в г. Апатиты –  $13,4 \pm 1,71\%$  (таблица 2, рис. 1), что ниже, чем в с. Краснощелья в 1,3, в 1,4, в 1,6 раза, соответственно.

Табл. 2. Средние значения встречаемости двухъядерных лимфоцитов с микроядром в обследуемых группах (классический протокол)

Table 2. Average values of the occurrence of binucleated lymphocytes with micronuclei in the study groups (classic protocol)

Населенный пункт	Частота двухъядерных лимфоцитов без микроядра, %	Частота двухъядерных лимфоцитов с микроядром, %
<b>Ловозерский район</b>		
с. Ловозеро (n=13)	$983,2 \pm 1,5^{2,4}$	$16,8 \pm 1,5^{2,4}$
с. Краснощелья (n=10)	$978,7 \pm 2,4^{1,3,4}$	$21,3 \pm 2,4^{1,3,4}$
<b>Терский район</b>		
п.г.т. Умба (n=16)	$984,1 \pm 1,5^2$	$15,9 \pm 1,5^2$
<b>Апатитско-Кировский район</b>		
г. Апатиты (n=19)	$986,6 \pm 1,7^{1,2}$	$13,4 \pm 1,7^{1,2}$

Примечание: верхним регистром указаны номера населенных пунктов, в которых показатели достоверно отличаются от приведенных значений согласно U-критерий Манна-Уитни ( $p \leq 0,05$ ): 1 – с. Ловозеро; 2 – с. Краснощелье; 3 – п.г.т. Умба; 4 – г. Апатиты.

Note: the upper case indicates the numbers of settlements in which the indicators significantly differ from the given values according to the Mann-Whitney U-test ( $p \leq 0,05$ ): 1 – Lovozero; 2 – Krasnoschelye; 3 – Umba; 4 – Apatity.

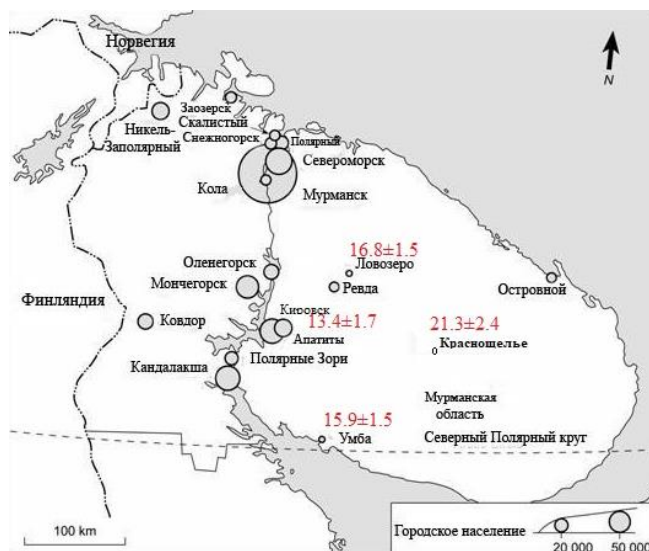


Рис. 1. Территориальная представленность лимфоцитов с микроядрами в крови детей Мурманской области

Fig. 1. Territorial representation of lymphocytes with micronuclei in the blood of children of the Murmansk region

Данные, приведенные в табл. 2 показывают, что частота встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядром у школьников с. Краснощелье Ловозерского района достоверно отличается от соответствующих показателей у школьников с. Ловозеро ( $U = 72,5, p = 0,017$ ), п.г.т. Умба ( $U = 70,0, p = 0,0018$ ) и г. Апатиты ( $U = 61,0, p = 0,0001$ ). При этом, самые низкие показатели частоты встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядром отмечены у школьников в г. Апатиты и п.г.т. Умба Терского района.

Анализ препаратов согласно расширенному протоколу микроядерного теста показал, что значительная часть клеток с микроядрами содержит 1 или больше двух ядер (табл. 3).

Табл. 3. Средние значения встречаемости лимфоцитов с микроядром в обследуемых группах (расширенный протокол, учтены все клетки), %

Table 3. Average values of the occurrence of lymphocytes with micronuclei in the examined groups (extended protocol, 1-, 2-, 3-, 4- and more nuclear cells are taken into account), %

	Частота двуядерных лимфоцитов с микроядром	Число клеток содержащих микроядра, без учета двуядерных лимфоцитов	Частота всех клеток с микроядрами
Ловозерский район			
с. Ловозеро (n=13)	9,9±0,8 <sup>2</sup>	8,9±0,8 <sup>3</sup>	18,8±1,3

с. Краснощелье (n=10)	14,5±0,8 <sup>1,3,4</sup>	8,3±0,6 <sup>3,4</sup>	22,7±1,2 <sup>4</sup>
Терский район			
п.г.т. Умба (n=16)	11,1±1,0 <sup>2</sup>	21,4±2,9 <sup>2</sup>	32,5±3,2 <sup>4</sup>
Апатитско-Кировский район			
г. Апатиты (n=19)	10,9±1,2 <sup>2</sup>	6,0±1,0 <sup>1,3,4</sup>	17,0±2,0 <sup>2,3</sup>

*Примечание: верхним регистром указаны номера населенных пунктов, в которых показатели достоверно отличаются от приведенных значений согласно U-критерий Манна — Уитни ( $p \leq 0,05$ ): 1 – с. Ловозеро; 2 – с. Краснощелье; 3 – п.г.т. Умба; 4 – г. Апатиты.*

*Note: the upper case indicates the numbers of settlements in which the indicators significantly differ from the given values according to the Mann-Whitney U-test ( $p \leq 0,05$ ): 1 – Lovozero; 2 – Krasnoschelye; 3 – Umba; 4 – the city of Apatity.*

Отмечаются достоверные отличия по частоте встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядром у школьников при учете всех клеток, вне зависимости от их плоидности, между с. Краснощелье Ловозерского района, с. Ловозеро ( $U = 45,0$ ,  $p = 0,0009$ ), п.г.т. Умба Терского района ( $U = 91,0$ ,  $p = 0,0125$ ) и г. Апатиты ( $U = 113,0$ ,  $p = 0,0125$ ) (табл. 3). Также были отмечены достоверные отличия между частотой встречаемости клеток с микроядрами, среди клеток, не ответивших на митогенный сигнал (однойядерные) и содержащих более 2 ядер в лимфоцитах между подростками с. Краснощелье и населенных пунктов, расположенных в других районах Мурманской области – г. Апатиты ( $U = 109,0$ ,  $p = 0,0093$ ) и п.г.т. Умба. ( $U = 73,5$ ,  $p = 0,0025$ ).

При сравнении частоты встречаемости всех типов клеток, содержащих микроядра в лимфоцитах подростков, выявлены достоверные различия между частотой встречаемости таких клеток у подростков г. Апатиты и п.г.т. Умба ( $U = 97,0$ ,  $p = 0,0036$ ).

При этом, в г. Апатиты и в Ловозерском районе большинство клеток с микроядром содержало 1 или 2 ядра, причем доля однойядерных лимфоцитов у некоторых обследованных доходила до 52% от всех лимфоцитов, на фоне незначительного числа клеток, содержащих более 2 ядер. Это свидетельствует о том, что значительная часть лимфоцитов либо оказалась нечувствительна к воздействию цитокинетического блока, либо не ответила на митогенный сигнал и не прошла стадию митоза до фиксации (в течение 28 часов после добавления к культивируемым клеткам ЦХБ). Поэтому можно предположить, что эти особенности могли бы быть обусловлены специфическими эндогенными и экзогенными факторами, ассоциированными с территорией проживания. Причем, разные техногенные и природные агенты могли бы приводить к одному и тому же результату [Корсаков и др., 2012]: высокотоксичные агенты на территории г. Апатиты и радиационный фактор среды в Ловозерском районе.

В соответствии с Международным протоколом микроядерного теста [Fenech et al., 2011], частота однойядерных клеток с микроядрами является одним из показателей нестабильности генома, что служит дополнительным подтверждением для геномной нестабильности и гипермутабильности клеток организма жителей с. Краснощелье, с. Ловозеро, а также высокой токсичности среды проживания в г. Апатитах. Доля полиядерных лимфоцитов без учета двуядерных была не значительной (не более 1,5%), на препаратах были идентифицированы только единичные клетки, содержащие более 2 ядер. Это также свидетельствует о низкой пролиферативной активности клеток доноров в культуре.

В Терском районе доля однойядерных клеток была не значительной и составляла 4–16% от общего числа клеток. Доля клеток, содержащих более 2 ядер, составляла от 2 до

6% (из них до 4,5% клеток было представлено четырехъядерными лимфоцитами, т.е. клетками, прошедшими митоз 2 раза за 28 часов). Это свидетельствует о более высокой скорости пролиферации у подростков, проживающих в Терском районе относительно других территорий сравнения. Увеличение скорости пролиферации лимфоцитов у детского населения в Терском районе может быть обусловлено преобладающей заболеваемостью на этой территории, связанной с аллергическими и аутоиммунными расстройствами [Fenech *et al.*, 2011; Бяхова., 2007].

Известно, что развитие воспалительных процессов и усиление иммунных реакций организма также приводит к увеличению частоты микроядер, что связано с апоптотической гибелью клеток (по большей части лимфоцитов и макрофагов), отвечающих за реализацию иммунного ответа [Balansky *et al.*, 1992; Chang *et al.*, 2006; Calveley *et al.*, 2005] и, вероятно, с компенсаторными процессами, проявляющимися в ускоренной пролиферации лимфоцитов. В частности, усиление продукции цитокинов лимфоцитами, макрофагами, гранулоцитами и другими клетками иммунной системы в ответ на нарушение иммунного гомеостаза и повышение уровня апоптоза тесно коррелирует с увеличением в них общей частоты микроядер, что позволяет использовать их уровень в качестве маркера заболеваний воспалительного характера [Балева, Сипягина, 2019; Калаев и др., 2006; Chinnasamy *et al.*, 1997]. Формирование микроядер наблюдается также при заболеваниях аллергического типа [El-Zein *et al.*, 2006].

Выявленные различия свидетельствуют о глубоких цитогенетических нарушениях в лимфоцитах у детей, что отражает геномную нестабильность [Балева и др., 2016; Hancock *et al.*, 2020; Балева, Сипягина, 2019; Ryabokon *et al.*, 2005; Сусков и др., 2006; Aghajanyan *et al.*, 2011]. Микроядра характеризуют двухцепочечные разрывы ДНК, свидетельствующие о более высоком уровне анеуплоидных клеток, а анеуплоидия, также, как и разрывы хромосом, могут привести к повышенной мутабельности, что, как предполагается, является предшественником рака [Fenech, 2002]. Высокий уровень анеуплоидных клеток у детей и повышенное содержание двуядерных лимфоцитов с протрузией, как и двуядерных лимфоцитов с почкой, могут свидетельствовать о начале канцерогенеза. Эти изменения так же являются свидетельством повышенной мутабельности [Хансон, Комар, 1985; Мейер и др., 2014], которое может привести к изменению дозы онкогенов и, следовательно, к повышенному риску развития рака. Возможно, высокий уровень первичной заболеваемости детей 15–17 лет новообразованиями в Ловозерском районе Мурманской области отражает состояние повышенной мутабельности соматических клеток, возникшее под влиянием генотоксических агентов ионизирующей природы.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, оценка цитогенетического статуса населения, проживающего на территориях сравнения, с применением микроядерного теста на лимфоцитах периферической крови, выявила значимые различия в характере цитогенетических нарушений, вероятно, ассоциированных с преобладающей заболеваемостью на территориях сравнения, и обусловленных особенностями территориальных генотоксических и токсических агентов. Для наиболее полного понимания влияния на цитогенетический статус человека различных параметров среды проживания, механизмов возникновения генетических повреждений, а также создания методологии прогноза развития этих эффектов необходим новый комплексный подход, позволяющий рассматривать организм в совокупности его разнообразных реакций. Поэтому необходимо проводить исследования, направленные на оценку нестабильности генома человека, обусловленные как биохимическими и физиологическими реакциями, так и психологическими фено-



менами организма, в значительной мере определяемыми условиями среды проживания. Для понимания механизма возникновения генетических повреждений и связанной с этим нестабильностью генома человека в ответ на воздействия, являющиеся атрибутами реальной жизни (социальные, психологические, физические, химические факторы среды и т.д.), необходимо проводить исследования на группах лиц в динамике. Ведь только исследования, проведенные в динамике, позволят понять механизм изменения скорости пролиферации клеток и выявить факторы, влияющие на этот процесс.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Балева Л.С., Номура Т., Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Якушева Е.Н., Егорова Н.И.* Цитогенетические эффекты и возможности их трансгенерационной передачи в поколениях лиц, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения после аварии на Чернобыльской АЭС. *Российский Вестник перинатологии и педиатрии*, 2016. № 3. С. 87–94. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-87-94.
2. *Балева Л.С., Сипягина А.Е.* Предикторы риска формирования радиационно-индуцированных стохастических заболеваний в поколениях детей из семей облученных родителей – актуальная проблема современности. *Российский Вестник перинатологии и педиатрии*, 2019. № 64(1). С. 7–14. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-7-14.
3. *Белишева Н.К.* Вклад высокоширотных гелиогеофизических агентов в заболеваемость населения Евро-Арктического региона. *Вестник Уральской медицинской академической науки*, 2014. №2(48). С. 5–11.
4. *Белишева Н.К., Мартынова А.А.* Комплексный подход для выявления причин заболеваемости детского населения Кольского Севера Проблемы адаптации и дезадаптации человека в экстремальных условиях Арктики. *Вестник Уральской медицинской академической науки*, 2019. Т. 16. № 2. С. 78–85. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-78-85.
5. *Белишева Н.К., Петров В.Н.* Проблема здоровья населения в свете реализации стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации. *Труды Кольского научного центра РАН*, 2013. В.4. С.151–173.
6. *Белишева Н.К., Талыкова Л.В., Мельник Н.А.* Медико-биологический мониторинг – как средство оценки качества окружающей среды для здоровья населения на Севере. *Материалы VII Северного социально-экологического конгресса*, 2012. С. 93–111.
7. *Белишева Н.К., Талыкова Л.В.* Связь некоторых патологических исходов беременности с источниками ионизирующей радиации в окружающей среде. *Экологические проблемы северных регионов и пути их решения: Материалы V Всероссийской научной конференции с международным участием*, 2014. Ч. 3. С. 151–155.
8. *Бяхова М.М.* Анализ кариологических показателей у детей с бронхиальной астмой и в группе сравнения в г. Туле. *Материалы II Всерос. научно-практ. конф. молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье»*, 2007. С. 13–14.
9. *Горовая А.И., Климкина И.И.* Использование цитогенетического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами. *Цитология и генетика*, 2002. Т. 36. №5. С. 21–25.
10. *Ингель Ф.И.* Качество жизни и индивидуальная чувствительность генома человека. Есть ли выход из порочного круга? *Экологическая генетика*, 2005. Т. 3. № 3. С. 38–46.

11. *Ингель Ф.И.* Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Ч. 1. Пролиферация клеток. Экологическая генетика, 2006. Т. 4. № 3. С. 38–54.
12. *Ингель Ф.И., Прихожан А.М., Цуцман Т.Е., Ревазова Ю.А.* Оценка глубины стресса и ее использование при проведении генетико-токсикологических исследований на людях. Вестник Академии медицинских наук, 1997. № 7. С. 24–28.
13. *Ингель Ф.И., Ревазова Ю.А.* Модификация эмоциональным стрессом мутагенных эффектов ксенобиотиков у животных и человека. Исследования по генетике, 1999. В.12. С. 86–103.
14. *Завадская Т.С., Р.Е. Михайлов, Белишева Н.К.* Анализ вкладов геофизических агентов и эндогенной микрофлоры в заболеваемость мужчин болезнями мочеполовой системы на Кольском Севере. Вестник Уральской медицинской академической науки, 2018. Т. 15. № 2. С. 162–175. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-2-162-175.
15. *Калаев В.Н., Буторина А.К., Кудрявцева О.Л.* Частота встречаемости клеток с микроядрами в плоском эпителии, полученном из соскобов с шейки матки женщин детородного возраста при различных физиологических состояниях, в норме и при воспалении. Естествензнание и гуманизм, 2006. Т. 3. № 2. С. 22–23.
16. *Корсаков А.В., Трошин В.П., Михалев В.П., Жилин А.В., Жилина О.В., Воробьева Д.А., Короткова Н.С.* Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений в буккальном эпителии детей на экологически неблагоприятных территориях Брянской области. Токсикологический Вестник, 2012. № 1. С. 29–34.
17. *Ляпунова Е.Р., Комарова Л.Н.* Действие редко- и плотноионизирующего излучения на популяцию *chlorella vulgaris*. Радиация и риск, 2014. Т. 23. № 4. С. 55–64.
18. *Мейер А.В., Толочко Т.А., Минина В.И., Тимофеева А.А.* Влияние полиморфизма генов репарации ДНК на кариологический статус клеток буккального эпителия человека при экспозиции радоном. Экологическая генетика, 2014. Т.12. № 1. С. 28–38.
19. *Мирецкий Г.И., Рамзаев П.В., Захарченко М.П., Лучкевич В.С.* Радиационный фактор на Крайнем Севере России. Санкт-Петербург: ГНИКИ СКУ «Система», 1999. 132 с.
20. *Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алещенко А.В., Антощина М.М, Готлиб В.Я., Конрадов А.А., Кудряшова О.В., Лизунова Е.Ю., Осипов А.Н., Рябченко Н.И., Серебряный А.М.* Молекулярно-клеточные последствия аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология, 2011. Т. 51. № 1. С. 154–161.
21. *Прозоровский В.Б., Скопичев В.Г.* Дистантное действие в патогенезе отравлений фосфоорганическими соединениями. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2004. Т. 3. №3. С. 56–65.
22. *Сусков И.И., Кузьмина Н.С., Сускова В.С. Балева Л.С., Сипягина А.Е.* Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Рад. биология. Радиоэкология, 2006. Т. 46. № 2. С. 167–177.
23. *Хансон К.П., Комар В.Е.* Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток. М.: Энергоатомиздат, 1985. 150 с.
24. *Aghajanyan A., Kuzmina N., Suskov I., Sipyagina A., Baleva L.* Analysis of Genomic Instability in the Offspring of Fathers Exposed to Low Doses of Ionizing Radiation. Environ Molecul Mutagenesis, 2011; V. 52(5). P. 83–91.

25. *Balansky R.B., D'Agostini F., Zanicchi P., De Flora S.* Protection by N-acetylcysteine of the histopathological and cytogenetical damage produced by exposure of rats to cigarette smoke. *Cancer. Lett.*, 1992. V. 64(2). P. 123–131.
26. *Bonassi S., Ugolini D., Kirsch-Volders M., Strömberg U., Vermeulen R., Tucker J.D.* Human population studies with cytogenetic biomarkers: review of the literature and future perspectives. *Environ Mol Mutagen.*, 2005. V. 54. P. 258–270.
27. *Calveley V.L., Khan M.A., Yeung I.W. et al.* Partial volume rat lung irradiation: temporal fluctuations of in-field and out-of-field DNA damage and inflammatory cytokines following irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2005. V. 81(12). P. 887–899.
28. *Chang J.L., Chen G., Lampe J.W., Ulrich C.M.* DNA damage and repair measurements from cryopreserved lymphocytes without cell culture—a reproducible assay for intervention studies. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2006. V. 47(7). P. 503–508.
29. *Chinnasamy N., Rafferty J.A., Hickson I. et al.* O6-benzylguanine potentiates the in vivo toxicity and clastogenicity of temozolomide and BCNU in mouse bone marrow. *Blood*, 1997. 89(5). P. 1566–1573.
30. *El-Zein R.A., Schabath M.B., Etzel C.J. et al.* Cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for lung cancer risk. *Cancer Res.*, 2006. V. 66(12). P. 6449–6456.
31. *Fenech M.* Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 2002. V. 181. P. 411–416.
32. *Fenech M.* Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.*, 2007. V. 2(5). P. 1084–1104.
33. *Fenech M., Bonassi S., Turner J., et al.* Human Micro Nucleus project. Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutat Res.*, 2003. V. 534(1–2). P. 45–64.
34. *Fenech M., Holland N., Zeiger E., Chang W.P., Burgaz S., Thomas P., Bolognesi C., Knasmueller S., Kirsch-Volders M., Bonassi S.* The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells: past, present and future. *Mutagenesis*, 2011. V. 26(1). P. 239–245.
35. *Fenech M., Morley A.* Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay // *Cytobios.*, 1985. V. 43 (172–173). P. 233–246.
36. *Hancock S., Nguyen T.K. Vo, Roza I. Goncharova, Colin B. Seymour, Soo Hyun Byun, Carmel E. Mothersill.* One-Decade-Spanning transgenerational effects of historic radiation dose in wild populations of bank voles exposed to radioactive contamination following the chernobyl nuclear disaster. *Environmental Research*, 2020. V. 180. P. 2–5.
37. *Ryabokon N. I., Smolich I.I., Kudryashov V.P., Goncharova R.I.* Long-term development of the radionuclide exposure of murine rodent populations in Belarus after the Chernobyl accident. *Radiat. Environ. Biophys.*, 2005. V. 44. P. 169–181. DOI: 10.1007/s00411-005-0015-2.
38. *Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W.* Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mut. Res.*, 1992. V. 271. P. 69–77.
39. *Yager J.W., Sorsa M., Selvin S.* Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes as an index of occupational exposure to alkylating cytostatic drugs. *IARC Sci Publ.*, 1988. V. 89. P. 213–216.

#### REFERENCES

1. *Aghajanyan A., Kuzmina N., Suskov I., Sipyagina A., Baleva L.* Analysis of Genomic Instability in the Offspring of Fathers Exposed to Low Doses of Ionizing Radiation. *Environ Molecul Mutagenesis*, 2011. V. 52(5). P. 83–91.

2. *Baleva L.S., Nomura T., Sipyagina A.E., Karahan N.M., Yakusheva E.N., Egorova N.I.* Cytogenetic effects and the possibilities of their transgenerational transmission in generations of persons living in regions of radionuclide contamination after the Chernobyl accident. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2016. V. 3. P. 87–94 (in Russian). DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-87-94.
3. *Baleva L.S., Sipyagina A.E.* Risk predictors of the formation of radiation-induced stochastic diseases in generations of children from families of irradiated parents are an urgent problem of our time. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2019. V. 64(1). P. 7–14. (in Russian). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-7-14.
4. *Balansky R.B., D'Agostini F., Zanacchi P., De Flora S.* Protection by N-acetylcysteine of the histopathological and cytogenetical damage produced by exposure of rats to cigarette smoke. *Cancer. Lett.*, 1992. V. 64(2). P. 123–131.
5. *Belisheva N.K.* The contribution of high-latitude heliogeophysical agents to the morbidity of the population of the Euro-Arctic region. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2014. V. 2(48). P. 5–11 (in Russian).
6. *Belisheva N.K., Martynova A.A.* An integrated approach to identify the causes of morbidity in the child population of the Kola North. *Problems of human adaptation and maladjustment in extreme conditions of the Arctic. Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2019. V. 16(2). P. 78–85 (in Russian). DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-78-85.
7. *Belisheva N.K., Petrov V.N.* The problem of public health in the light of the implementation of the development strategy for the Arctic zone of the Russian Federation. *Proceedings of the Kola Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2013. V.4. P. 151–173. (in Russian).
8. *Belisheva N.K., Talykova L.V., Mel'nik N.A.* Biomedical monitoring – as a means of assessing the quality of the environment for the health of the population in the North. *Materials of the VII Northern Social and Environmental Congress*, 2012. P. 93–111 (in Russian).
9. *Belisheva N.K., Talykova L.V.* Relationship of some pathological outcomes of pregnancy with sources of ionizing radiation in the environment. *Environmental problems of the northern regions and ways to solve them: Proceedings of the V All-Russian scientific conference with international participation*, 2014. V. 3. P. 151–155 (in Russian).
10. *Byahova M.M.* Analysis of karyological parameters in children with bronchial asthma and in the comparison group in Tula. *Materials of the II All-Russia. scientific and practical. conf. young scientists and specialists "Environment and Health"*, 2007. P. 13–14 (in Russian).
11. *Bonassi S., Ugolini D., Kirsch-Volders M., Strömberg U., Vermeulen R., Tucker J.D.* Human population studies with cytogenetic biomarkers: review of the literature and future perspectives. *Environ Mol Mutagen.*, 2005. V. 54. P. 258–270.
12. *Calveley V.L., Khan M.A., Yeung I.W. et al.* Partial volume rat lung irradiation: temporal fluctuations of in-field and out-of-field DNA damage and inflammatory cytokines following irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2005. V. 81(12). P. 887–899.
13. *Chang J.L., Chen G., Lampe J.W., Ulrich C.M.* DNA damage and repair measurements from cryopreserved lymphocytes without cell culture—a reproducible assay for intervention studies. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2006. V. 47(7). P. 503–508.
14. *Chinnasamy N., Rafferty J.A., Hickson I. et al.* O6-benzylguanine potentiates the in vivo toxicity and clastogenicity of temozolomide and BCNU in mouse bone marrow. *Blood*, 1997. 89(5). P. 1566–1573.

15. *El-Zein R.A., Schabath M.B., Etzel C.J. et al.* Cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for lung cancer risk. *Cancer Res.*, 2006; V. 66(12). P. 6449–6456.  
*Fenech M.* Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 2002. V. 181. P. 411–416.
16. *Fenech M.* Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 2002. V. 181. P. 411–416.
17. *Fenech M.* Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.*, 2007. V. 2(5). P. 1084–1104.
18. *Fenech M., Bonassi S., Turner J. et al.* Human Micro Nucleus project. Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutat Res.*, 2003. V. 534 (1–2). P. 45–64.
19. *Fenech M., Holland N., Zeiger E., Chang W.P., Burgaz S., Thomas P., Bolognesi C., Knasmueller S., Kirsch-Volders M., Bonassi S.* The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells: past, present and future. *Mutagenesis*, 2011. V. 26(1). P. 239–245.
20. *Fenech M., Morley A.* Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios.*, 1985. V. 43(172–173). P. 233–246.
21. *Gorovaya A.I., Klimkina I.I.* The use of cytogenetic testing to assess the ecological situation and the effectiveness of the rehabilitation of children and adults with natural adaptogens. *Cytology and genetics*, 2002. V.36(5). P. 21–25. (in Russian).
22. *Hancock S, Nguyen T.K. Vo, Roza I. Goncharova, Colin B. Seymour, Soo Hyun Byun, Carmel E. Mothersill.* One-Decade-Spanning transgenerational effects of historic radiation dose in wild populations of bank voles exposed to radioactive contamination following the chernobyl nuclear disaster. *Environmental Research*, 2020. V. 180. P. 2–5.
23. *Hanson K.P., Komar V.E.* Molecular mechanisms of radiation cell death. *Energoatomizdat*, 1985. 150 p. (in Russian).
24. *Ingel' F.I.* Quality of life and individual sensitivity of the human genome. Is there a way out of the vicious circle? *Ekologicheskaya genetika*, 2005. V. 3(3). P. 38–46 (in Russian).
25. *Ingel' F.I.* Prospects for the use of the micronucleus test on human lymphocytes cultured under conditions of a cytokinetic block. Part 1. Cell proliferation. *Environmental genetics*, 2006. V. 4 (3). P. 38–54. (in Russian).
26. *Ingel' F.I., Prikhozhan A.M., Tsutsman T.E., Revazova Yu.A.* Assessment of the depth of stress and its use in the conduct of genetically toxicological studies in humans. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*, 1997. V. 7. P. 24-8. (in Russian).
27. *Ingel' F.I., Revazova Yu.A.* Modification by emotional stress of mutagenic effects of xenobiotics in animals and humans. *Research in genetics*, 1999. V. 12. P. 86–103. (in Russian).
28. *Kalaev V.N., Butorina A.K., Kudryavceva O.L.* The frequency of occurrence of cells with micronuclei in squamous epithelium obtained from scrapings from the cervix of women of childbearing age under various physiological conditions, in health and inflammation. *Natural science and humanism*, 2006. V. 3 (2). P. 22–23 (in Russian).
29. *Korsakov A.V., Troshin V.P., Mihalev V.P., ZHilin A.V., ZHilina O.V., Vorob'eva D.A., Korotkova N.S.* Comparative assessment of the frequency of cytogenetic disorders in the buccal epithelium of children in ecologically unfavorable areas of the Bryansk region. *Toxicological Bulletin*, 2012. V. 1. P. 29–34 (in Russian).
30. *Lyapunova E.R., Komarova L.N.* The effect of rare and densely ionizing radiation on the population of *chlorella vulgaris*. *Radiation and risk*, 2014. V. 23(4). P. 55–64 (in Russian).

31. Meyer A.V., Tolochko T.A., Minina V.I., Timofeeva A.A. Influence of DNA repair genes polymorphism on karyology of buccal epithelium cells in humans exposed to radon. *Ecological genetics*, 2014. V. 12(1). P. 28–38 (in Russian).
  32. Mireckij G.I., Ramzaev P.V., Zaharchenko M.P., Luchkevich V.S. Radiation factor in the Far North of Russia. St. Petersburg: GNIKI SKU "Sistema". 1999. 132 p. (in Russian).
  33. Pelevina I.I., Afanas'ev G.G., Aleshchenko A.V., Antoshchina M.M, Gotlib V.YA., Konradov A.A., Kudryashova O.V., Lizunova E.YU., Osipov A.N., Ryabchenko N.I., Serebryanyj A.M. Molecular-cellular consequences of the Chernobyl accident. *Radiation. biology. Radioecology*, 2011. V. 51(1). P. 154–161 (in Russian).
  34. Prozorovskij V.B., Skopichev V.G. Distant action in the pathogenesis of poisoning with organophosphate compounds. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2004. V. 3(3). P. 56–65 (in Russian).
  35. Ryabokon N.I., Smolich I.I., Kudryashov V.P., Goncharova R.I. Long-term development of the radionuclide exposure of murine rodent populations in Belarus after the Chernobyl accident. *Radiat. Environ. Biophys.*, 2005. V. 44. P. 169–181. DOI: 10.1007/s00411-005-0015-2.
  36. Suskov I.I., Kuz'mina N.S., Suskova V.S. Baleva L.S., Sipyagina A.E. The problem of induced genomic instability as the basis of increased morbidity in children exposed to low-intensity radiation in low doses. *Glad. biology. Radioecology*, 2006; V. 46(2). P. 167–177 (in Russian).
  37. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mut. Res.*, 1992. V. 271. P. 69–77.
  38. Yager J. W., Sorsa M., Selvin S. Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes as an index of occupational exposure to alkylating cytostatic drugs. *IARC Sci Publ.*, 1988. V. 89. P. 213–216.
  39. Zavadskaya T.S., R.E. Mihajlov, Belisheva N.K. Analysis of the contributions of geophysical agents and endogenous microflora to the incidence of diseases of the genitourinary system in men in the Kola North. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2018. V. 15(2). P. 162–175. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-2-162-175 (in Russian).
-