

# БИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ

"Пробл. старения и долголетия", 2013, 22, № 2. — С. 121–128

УДК 576.316+612.68+574.2

**Р. В. Козовий**

*Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України,  
76018 Івано-Франківськ*

## ЧАСТОТА ТА СПЕКТР ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ, АСОЦІАЦІЙ АКРОЦЕНТРИЧНИХ ХРОМОСОМ У ДОВГОЖИТЕЛІВ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ РАЙОНІВ ІВАНО-ФРАНКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Проведений аналіз частоти та спектра хромосомних аберацій (ХА), асоціацій акроцентричних хромосом (ААХ) залежно від екологічних умов проживання 264 довгожителів (90–102 роки) і 218 осіб групи порівняння (36–60 років). Встановлено, що середньогрупова частота ХА у довгожителів із зони екологічного благополуччя становила  $(2,85 \pm 0,25) \%$ , із зони помірного екологічного навантаження —  $(2,98 \pm 0,24) \%$  та із зони з несприятливими екологічними умовами —  $(3,05 \pm 0,15) \%$ , що було вірогідно менше, ніж у групі порівняння, — в 1,5; 1,7 і 1,8 рази, відповідно. Водночас виявлено індивідуальну мінливість частоти ХА серед обстежених довгожителів — від 0,2 до 5%. При вивченні показника ААХ істотних вікових і статевих змін у всіх обстежених довгожителів не виявлено. Отримані результати частоти ААХ корелювали з показниками частоти ХА, що підтвердило негативний вплив екологічних умов на імунгенетичний статус та адаптивні можливості людини.

**Ключові слова:** довгожителі, каріотип, хромосомні аберації, асоціації акроцентричних хромосом.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, налтрексон, продовжителність життя, газообмен, двигательная активність, стресс.

Проблема комплексної дії чинників довкілля на живі організми знаходиться в центрі уваги наукових досліджень медичних генетиків. Різні види живого мають приблизно однаковий набір реакцій на вплив мута-

© Р. В. Козовий, 2013.

генів [2]. Збільшення мутагенного навантаження до рівня, здатного подвоїти частоту виникнення мутацій у людини, може призвести до істотних змін організму. Особливо це характерно для осіб похилого віку, оскільки при старінні інтенсивність мутаційного процесу зростає через погіршення стану репаративних систем та підвищення чутливості до дії негативних чинників, що призводить до більш стрімкого згасання життєвої активності.

Старіння протікає на всіх рівнях організації живого: від молекулярно-генетичного до організмowego [9]. Згідно із сучасними уявленнями клітинної теорії старіння, вагомими чинниками є накопичення клітинних порушень, послаблення механізмів виживання та відновлення клітин і тканин. Найбільш частими серед них є спонтанні мутації в соматичних клітинах, зокрема структурні аберації хромосом. У багатофакторному процесі старіння останнім належить суттєва роль [3]. При дослідженні різних цитогенетичних і молекулярно-генетичних порушень у більшості випадків було встановлено, що частота їх виникнення збільшується з віком. Це стосувалося хромосомних аберацій (ХА) [14], мікроядер [12], втрати теломерних повторів [15], мутацій в глікофоринному локусі [13], розривів ДНК [1], тощо. Однак робіт із вивчення особливостей стану хромосомного апарату довгожителів Прикарпаття, які проживали в різних екологічних умовах, не проводилось.

У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що на території Івано-Франківської області проживає 4566 довгожителів віком 90 років і більше. Порівняльний аналіз кількості цих осіб у різних районах області засвідчив їх перевагу в Калуському та Коломийському районах — відповідно, 568 та 503 довгожителі [8]. Найменше таких людей зареєстровано у Верховинському (108) та Богородчанському (189) районах. В зоні екологічного благополуччя відносна кількість довгожителів була меншою порівняно з такою в районах із помірними та несприятливими екологічними умовами — відповідно в 1,5 та 1,9 рази. Закономірним продовженням досліджень в даному напрямку було вивчення стану хромосомного апарату довгожителів Прикарпаття.

Мета дослідження — вивчення частоти та спектра ХА, асоціацій акроцентричних хромосом (ААХ) у довгожителів Івано-Франківської області залежно від екологічних умов проживання.

**Обстежувані та методи.** Розподіл населення за екологічними зонами проводили на основі результатів попередніх наших досліджень, екологічних паспортів області та звітів екологічних досліджень [6, 9]. До основної групи належали довгожителі віком 90–102 роки, групу порівняння склали особи віком від 36 до 60 років, у родах яких не було довгожителів. Серед усіх обстежених переважали люди з населених пунктів з помірним екологічним навантаженням (табл. 1).

Проведення цитогенетичного аналізу довгожителів базувалося на дослідженні каріотипу лімфоцитів периферійної крові. Вивчення цитогенетичних характеристик лімфоцитів периферійної крові є інформативним та достовірним методом для оцінки стану спадкового апарату

людини. Саме зміни каріотипу можуть вказувати на структурні порушення хромотипу, зумовлені екзо- та ендогенними чинниками, стан адаптивних можливостей організму тощо.

Таблиця 1

Розподіл обстежених, що проживають в різних екологічних зонах Івано-Франківської області

Група	Зона екологічного благополуччя ( $n = 137$ )	Зона помірного екологічного навантаження ( $n = 196$ )	Зона з несприятливими екологічними умовами ( $n = 149$ )
36–60 років ( $n = 218$ )	62	89	67
90–102 роки ( $n = 264$ )	75	107	82

Забір матеріалу проводили стерильними шприцами з додаванням 0,01 мл розчину гепарину, поміщали в сумку-термос (5–7 °С) та протягом 1–2 год доставляли до акредитованої генетичної лабораторії Івано-Франківського національного медичного університету. Культивування лімфоцитів та приготування препаратів хромосом проводили за допомогою реактивів "PB MAX" фірми "Gibco" за методичними рекомендаціями, затвердженими МОЗ України [7]. Фарбування метафазних пластинок здійснювали за GTG-методом. Виготовлені препарати досліджували на оптико-електронному комплексі "Метаскан-2".

Аналізували метафазні пластинки з добрим розкидом хромосом. Від кожної людини проаналізовано не менше 30 метафазних пластинок. Окрім ідентифікації ХА визначали кількість ААХ, наявність яких оцінювали за критеріями, розробленими О. К. Фроловим та співавт. [10]. Враховували специфічність розміщення акроцентричних хромосом у метафазі: відсутність накладання хромосом, короткі плечі акроцентриків, орієнтовані одне до одного, і відстань між ними без урахування супутників (сателітів) не перевищує розміру довгого плеча хромосоми з групи G; більша відстань приймалася за асоціацію, якщо акроцентрики були зв'язані видимими нитками або лежали на одній хромосомній осі. Вираховували асоціативний індекс як співвідношення кількості клітин з асоціаціями до загальної кількості проаналізованих клітин у перерахунку на 100 %. Також визначали середнє число ААХ в одній клітині та середнє число хромосом в одній асоціації.

**Результати та їх обговорення.** При дослідженні метафазних пластинок людей Івано-Франківської області нами встановлено, що середньогрупова частота ХА у довгожителів залежала від екологічних умов проживання. Так, у осіб із зони екологічного благополуччя вона становила  $(2,85 \pm 0,25) \%$ , із зони помірного екологічного навантаження —  $(2,98 \pm 0,24) \%$  та із зони з несприятливими екологічними умовами —  $(3,05 \pm 0,15) \%$ , що було вірогідно менше, ніж частота ХА у групі порівняння — в 1,5; 1,7 і 1,8 рази ( $P < 0,05$ ), відповідно. У той же час, виявлено індивідуальну мінливість частоти ХА серед обстежених довгожителів — від 0,2 до 5 %. У довгожителів, які проживали в несприятливих екологічних умовах, максимальне значення частоти ХА досягало 5 %, у

групі порівняння — 7%. Індивідуальні коливання рівня ХА зумовлені, на нашу думку, комплексним впливом радіаційних та хімічних мутагенів. Коливання значень кількісних показників хромосомного апарату зумовлені не тільки варіаціями репаративних процесів, але й генетично детермінованими механізмами біотрансформації ксенобіотиків (мутагенів) [4]. Отримані результати не суперечать багаточисельним цитогенетичним дослідженням, які були проведені Н. П. Бочковим та співавт. [5]. Ними встановлено відсутність змін загальної кількості аберантних метафаз залежно від статі та віку людини. Проте після 80 років кількість фрагментів зростає, а кількість хроматидних обмінів зменшується. Це підтверджено науковими працями А. М. Чеботарьова [11], які пов'язують це з більш ефективним перебігом репараційних процесів у молодому віці.

Згідно з однією з відомих гіпотез старіння, причиною вікових змін організму виступають чисельні пошкодження генетичного апарату мутагенними чинниками різної природи [2]. Це узгоджується з отриманими нами даними про більшу частоту ХА у всіх жителів екологічно несприятливих районів. ХА обстежених нами осіб мали широкий спектр маркерів негативного впливу зовнішніх чинників. Одиночні фрагменти, хроматидні мости засвідчили перевагу мутагенного фону хімічної природи. Маркери радіаційного мутагенезу (дицентрики, парні фрагменти, розриви) частіше зустрічалися в осіб із зони з несприятливими екологічними умовами (рис. 1). В деяких метафазних пластинках довгожителів зустрічалися пробіли в 1-ій та 22-ій хромосомах.

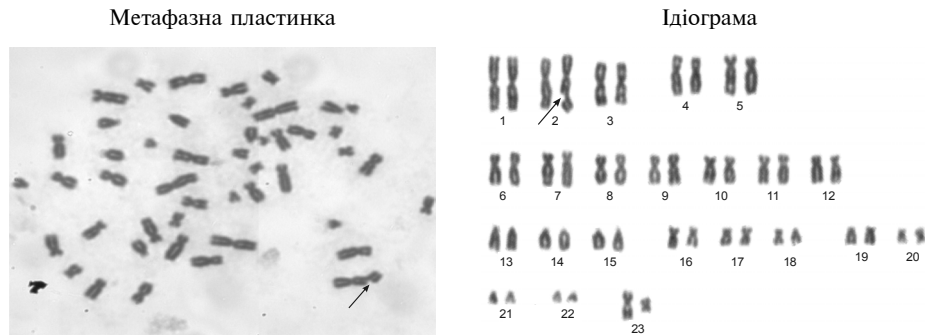


Рис. 1. Каріотип довгожителя В. (93 роки), який проживає в зоні з несприятливими екологічними умовами. Стрілка — хромосомна аберація: розрив у 2-ій хромосомі (забарвлено за Гімза. 3б.: ок. 15, об. 100).

Нестабільні ХА (дицентрики, кільця, фрагменти) призводять до загибелі клітин, стабільні ХА (транслокації, інсерції), як відомо, супроводжують онтогенез, а також можуть впливати на життєво важливі функції клітин [3]. Подібна генетична нестабільність соматичних клітин передумовлює глибокий вплив на генну експресію, що призводить до генетичних та епігенетичних змін, а в подальшому — до дегенерації та атрофії клітин і тканин. Останнє є причиною старіння організму в цілому.

При вивченні показника адаптивних можливостей та імуногенетичного статусу організму — ААХ — істотних вікових і статевих змін у всіх обстежених довгожителів не виявлено. Відзначалися коливання кількості ААХ залежно від зони проживання (табл. 2). Так, у довгожителів із зони з несприятливими екологічними умовами частота клітин ААХ і число асоційованих хромосом в одній клітині були більшими порівняно з такими показниками із зони екологічного благополуччя та помірного екологічного навантаження; абсолютно така ж залежність спостерігалася у групі порівняння (див. табл. 2).

Таблиця 2

Частота асоціації акроцентричних хромосом (ААХ) у лімфоцитах периферійної крові залежно від віку та зони проживання обстежених Івано-Франківської області, % ( $M \pm m$ )

Зона проживання	Група	Частота клітин з ААХ	Середня кількість ААХ в одній клітині	Число асоційованих хромосом в одній клітині
Екологічного благополуччя	36–60 років	91,0 ± 0,24	1,64 ± 0,41	2,1 ± 0,32
	90–102 роки	85,0 ± 0,12*	1,50 ± 0,18	1,80 ± 0,31
Помірного екологічного навантаження	36–60 років	92,2 ± 0,41 <sup>#</sup>	1,67 ± 0,13	3,3 ± 0,27 <sup>#</sup>
	90–102 роки	91,0 ± 0,33 <sup>#</sup>	1,51 ± 0,19	3,2 ± 0,15 <sup>#</sup>
З несприятливими екологічними умовами	36–60 років	95,3 ± 0,26 <sup>#а</sup>	1,97 ± 0,74	4,5 ± 0,34 <sup>#а</sup>
	90–102 роки	93,0 ± 0,17* <sup>#а</sup>	1,66 ± 0,17	3,8 ± 0,18 <sup>#а</sup>

Примітки: \* —  $P < 0,05$  порівняно з групою 36–60 років, <sup>#</sup> —  $P < 0,05$  порівняно з відповідною віковою групою зони екологічного благополуччя, <sup>а</sup> —  $P < 0,05$  порівняно з відповідною віковою групою зони помірного екологічного навантаження.

При аналізі враховували всі можливі варіанти асоціацій між парами хромосом. Найчастіші асоціації зустрічались між 15, 16 та 22 хромосомами (рис. 2).

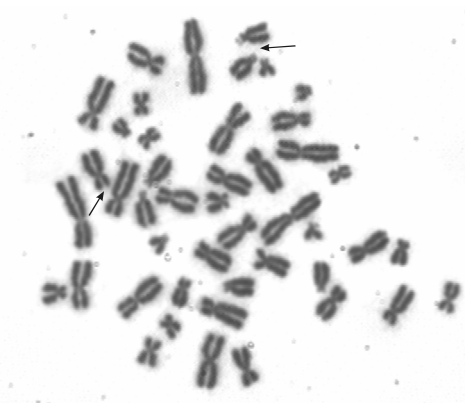


Рис. 2. Каріотип довгожителя С. (94 роки), який проживає в зоні з несприятливими екологічними умовами. Стрілки — асоціації акроцентричних хромосом (забарвлено за Гімза. Зб.: ок. 15, об. 100).

Середня кількість ААХ в одній клітині коливалася у довгожителів залежно від умов проживання: від  $(1,50 \pm 0,18)$  до  $(1,66 \pm 0,17)$  та була меншою, ніж така в осіб із групи порівняння, — від  $(1,64 \pm 0,41)$  до  $(1,97 \pm 0,74)$ . Отже, найбільшу частоту ААХ та кількість асоціацій в одній клітині зареєстровано в осіб групи порівняння, що проживають в зоні з несприятливими екологічними умовами.

Найчастіше зустрічалися ААХ з двома та трьома асоційованими хромосомами, рідше — з трьома, чотирма та п'ятьма (див. рис. 2). Середні значення показники ААХ залежали від екологічних умов проживання. Отримані результати частоти ААХ корелювали з показниками частоти ХА ( $r$  коливались від 0,73 до 0,9), що підтвердило негативний вплив екологічних умов на імунотетичний статус та адаптивні можливості людини.

Отже, перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягають у визначенні частоти поліморфних варіантів делецій генів системи детоксикації ксенобіотиків *GSTT1* і *GSTM1* у довгожителів, які сприяють адаптації організму до впливу різноманітних екзогенних чинників.

### Список використаної літератури

1. *Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. — СПб.: Наука, 2003. — 468 с.
2. *Берестяна А. М., Гродзинський Д. М.* Роль мутагенних факторів в процесі старіння живих організмів // Науковий вісник Ужгородського ун-ту (сер. Біологія). — 2011. — Вип. 20. — С. 118–127.
3. *Болтіна І. В.* Вплив шкідливих чинників та хронічної патології на цитогенетичні показники лімфоцитів периферійної крові у людей різного віку // Пробл. старения и долголетия. — 2008. — **18**, № 4. — С. 433–441.
4. *Бочков Н. П.* Наследственные болезни: национальное руководство. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2012. — 936 с.
5. *Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д.* База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Генетика. — 2001. — **37**, № 4. — С. 549–557.
6. *Екологічний паспорт Івано-Франківської області* [Електр. ресурс]. — Режим доступу: (<http://www.menr.gov.ua/content/article/5982>)
7. *Зерова-Любимова Т. Е., Горовенко Н. Г.* Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Методичні рекомендації. — К., 2003. — 24 с.
8. *Ковальчук Л. Є., Козовий Р. В., Малофій Л. С.* Роль спадкових, екологічних, соціальних факторів у формуванні тривалості життя і довголіття // Буковинський мед. вісник. — 2009. — **13**, № 4. — С. 137–140.
9. *Міністерство екології та природних ресурсів України.* Інформаційно аналітичний центр Державної системи моніторингу довкілля. Розділ огляди, бюлетні і звіти стану довкілля [Електр. ресурс]. — Режим доступу: (<http://www.ecobank.org.ua/GovSystem/EnvironmentState/Reviews/Pages/default.aspx>).
10. *Фролов А. К., Арцимович Н. Г., Сохин А. А.* Имуноцитогенетика. — М.: Медицина, 1993. — 239 с.
11. *Чеботарев А. Н.* Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Вестник РАМН. — 2001. — **37**, № 2. — С. 64–69.

12. *Fenech M., Morley A. A.* The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei // *Mutat. Res.* — 1985. — **148**. — P. 99–105.
13. *Gangulu B. B.* Cell division, chromosomal damage and micronucleus formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age // *Mutat. Res.* — 1993. — **295**. — P. 135–148.
14. *Harman D.* Free radical theory of aging // *Mutat. Res.* — 1992. — **275**. — P. 257–266.
15. *Lindsey J., McGill N. I., Green D. K., Cooke H. I.* *In vivo* loss of telomeric repeats with age in humans // *Mutat. Res.* — 1991. — **256**. — P. 45–48.

Поступила 13.04.2013

**ЧАСТОТА И СПЕКТР ХРОМОСОМНЫХ АБЕРАЦИЙ,  
АССОЦИАЦИЙ АКРОЦЕНТРИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ  
У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ  
РАЙОНОВ ИВАНО-ФРАНКОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Р. В. Козовый**

Ивано-Франковский национальный медицинский  
университет МЗ Украины, 76018 Ивано-Франковск

Проведен анализ частоты и спектра хромосомных aberrаций (ХА), ассоциаций акроцентрических хромосом (ААХ) в зависимости от экологических условий проживания 264 долгожителей (90–102 года) и 218 лиц группы сравнения (36–60 лет). Установлено, что среднегрупповая частота ХА у долгожителей из зоны экологического благополучия составляла  $(2,85 \pm 0,25) \%$ , из зоны умеренной экологической нагрузки —  $(2,98 \pm 0,24) \%$  и из зоны с неблагоприятными экологическими условиями —  $(3,05 \pm 0,15) \%$ , что было достоверно меньше, чем в группе сравнения, — в 1,5; 1,7 и 1,8 раза, соответственно. Одновременно выявлена индивидуальная изменчивость частоты ХА среди обследованных долгожителей — от 0,2 до 5 %. При изучении показателя ААХ существенных возрастных и половых изменений у всех обследованных долгожителей не выявлено. Полученные результаты частоты ААХ коррелировали с показателями частоты ХА, что подтвердило негативное влияние экологических условий на иммуногенетический статус и адаптивные возможности человека.

**FREQUENCY AND SPECTRUM OF CHROMOSOMAL  
ABERRATIONS, ASSOCIATIONS OF ACROCENTRIC  
CHROMOSOMES IN LONGEVOUS PEOPLE OF VARIOUS  
ECOLOGICAL REGIONS OF IVANO-FRANKIVSK OBLAST**

**R. V. Kozovyi**

Ivano-Frankivsk National Medical University Ministry of Health  
Ukraine, 76018 Ivano-Frankivsk

Analyzed were a frequency and spectrum of chromosomal aberrations (CA), associations of acrocentric chromosomes (AAC) depending on the ecological conditions of living of 264 long-living subjects (aged 90–102) and 218 persons of comparison group (aged 36–60). The average group frequency of CA in longevous people from the wellbeing zone was found to be  $(2.85 \pm 0.25) \%$ , in the zone of moderate ecological load —  $(2.98 \pm 0.24) \%$  and in the zone with unfavorable ecological conditions —  $(3.05 \pm 0.15) \%$ , which was significantly less, compared to comparison group, — by 1.5, 1.7 and 1.8 times, respectively. Also found was an individual variability of the frequency of CA among the longevous people examined — from 0.2 до 5 %. No significant age- or gender-related changes were found in AAC of all examined longevous people. The results of AAC frequency correlated with indices of CA frequency, thus confirming a negative effect of ecological conditions on the immunogenetic status and adaptive capacities of man.

**Відомості про автора**

Р. В. Козовий — доцент кафедри медичної біології з курсом медичної генетики,  
к.м.н. (ruslan\_kozoviy@ukr.net)