

CLINICAL-GENEALOGICAL AND CYTOGENETIC PECULIARTIES OF CHILDREN BORN TO FATHERS -LIQUIDATORS OF THE CHERNOBYL ACCIDENT

КЛИНИКО-ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ОТ ОТЦОВ - ЛИКВИДАТОРОВ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

N.M. Korenev, V.I. Kovaleva, N.V. Bagatskaya

Institute of Children and Adolescents Health Care of AMS of Ukraine,
prospect 50-letiya VLKSM,52-A, Kharkov, Ukraine, 61153. Phone (0572) 62-60-12,
fax 62-50-19, e-mail: iozdp@ic.kharkov.ua

Н.М. Корнев, В.И. Ковалева, Н.В. Багацкая

Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины,
пр.50-летия ВЛКСМ, 52-А, г. Харьков, Украина, 61153
тел. (0572) 62-60-12, факс 62-50-19

Abstract

Clinical-genealogical and cytogenetic peculiarities were studied in children, born to fathers who took part in liquidation the Chernobyl nuclear accident consequences for 1999-2002 at the Institute of Children and Adolescents' Health Care of AMS of Ukraine. According to the genealogical analysis data, total contribution of genetic factors into the chronic non-infectious pathology development in children of fathers-liquidators of the Chernobyl accident was 24% that was significantly lower than environmental component contribution of (76%). Preponderant pathologies in children from the affected families by Chernobyl were diseases of urogenital (56%), respiratory (44%) and endocrinal (42%) systems. Dynamic study (from 3 to 3.5 years) of cytogenetic influence in such children showed a certain decrease in chromosomal disorders incidence (from 1.26% to 0.53%, $p < 0.001$). Together with decrease in the chromosomal aberrations incidence in children, it was established an increase in numerical chromosomal disorders (polyploidy). The rate of polyploidy in the group under investigation was up to 2.01% that exceeded the data of the preliminary examination (0.09%, $p < 0.001$).

Key words: genealogy, cytogenetic effect, children, Chernobyl nuclear accident.

INTRODUCTION

It is well known that multifactorial diseases form a bulk of prevailing pathologies, the development of which mostly depends upon the unfavorable environmental factors impact, as well as upon hereditary predisposition (Lilin E.T. et al., 1990). The multifactorial diseases start developing at a supraliminal integral genetic and non-genetic factors effect on an organism (Miakotkin V.A., 1989). One can assume that children born to fathers who took part in liquidation of the Chernobyl nuclear accident consequences (ChNPP) are nearer to the threshold than most other people, which implies their higher susceptibility to onset of multifactorial diseases.

One of fundamental problems is to estimate the genetic apparatus functioning stability since genome disorders can be the basis of immune system disorders origination, carcinogenesis, and lead to life span reduction (Maznik N.A. et al., 1996; El-Kashef H.S. et al., 1999).

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, мультифакториальные заболевания составляют основную массу патологии у населения, в реализации которой наряду с наследственной предрасположенностью существенное значение имеют и неблагоприятные факторы внешней среды (Лильин Е.Т. и соавт., 1990). Такого рода заболевания начинают развиваться при надпороговом суммарном воздействии генетических и негенетических факторов на организм (Мякоткин В.А., 1989). Можно предположить, что дети, рожденные от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, находятся ближе к порогу, чем большинство индивидов, что предполагает их большую предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям

Одним из фундаментальных вопросов остается оценка стабильности функционирования генетического аппарата, так как повреждения генома могут составлять основу нарушений иммунной системы, канцерогенеза и снижения продолжительности жизни (Мазник Н.А. и соавт., 1996; Эль-Кашиф Х.С. и соавт., 1999).

It is known, that complete elimination of negative radiation-induced genetic load in population takes place in the seventh to tenth offspring generation (Nefedov I.Y. et al., 1996). It is quite possible that a maximum of radiation-caused disorders occurrence can be observed in the first two offspring generations of irradiated parents.

Some researches have demonstrated that mutant cells death had no further genetic consequences. Chromosome-aberrated cells reproduction, however, leads to preservation of initial chromosome mutations and their transformation into new types. Radiation-induced chromosome aberration incidence decreases with the growth of post-irradiation time period. This process depends on initial aberration level, their character, and cell type (Bochkov N.P. et al., 1989).

According to examination results of persons-participants of the liquidation of the ChNPP accident, intensity and character of cytogenetic disorders substantially depend on ecological situation in the region of further residence (Frolov V.M. et al., 1993).

All the foresaid made a basis for our research on studies of the multifactorial pathology accumulation and cytogenetic effect dynamics in families with children born to fathers who participated in clean-up works after the ChNPP consequences.

MATERIAL AND METHODS

Clinical-genealogical analysis was carried out in 99 families of the Chernobyl accident consequences liquidators. Cytogenetic investigation was performed for 40 children. Cytogenetic parameter dynamics was studied in offspring generation. The case-monitoring group was formed from children being under dispensary observation in 1999-2002.

The interval between cytogenetic observations was 3-3.5 years. Peripheral blood lymphocyte cultivation was carried out using standard semimicromethod (Hungerford D., 1965). Chromosome specimens were stained with use of standard method with Romanovsky-Gimsa coloring agent; some specimens were stained through differential G-banding. Chromosome identification was performed by use of Denver nomenclature. Up to 100 metaphases complying with necessary requirements were analyzed for each patient (Zakharov A.F. et al., 1982). All kinds of chromosome disorders, except achromatic ones (gaps) were taken into consideration.

Известно, что полная элиминация отрицательного радиационно-индуцированного генетического груза в популяции происходит к 7-10 поколению (Нефедов И.Ю. и соавт., 1996). Вполне вероятно, что максимум в реализации радиационных нарушений может наблюдаться в первых двух поколениях потомства облученных родителей.

В некоторых исследованиях было показано, что гибель мутантных клеток в дальнейшем не имеет генетических последствий. Размножение же клеток с хромосомными аберрациями ведет к сохранению исходных хромосомных мутаций и трансформации их в новые типы. С увеличением времени после облучения частота радиационно-индуцированных хромосомных аберраций снижается. Процесс этот зависит от исходного уровня аберраций, их характера и типа клеток (Бочков Н.П. и соавт., 1989).

Согласно результатам обследования ликвидаторов аварии на ЧАЭС, выраженность и характер цитогенетических нарушений в значительной степени зависит от экологических условий региона дальнейшего проживания (Фролов В.М. и соавт., 1993).

Все вышеизложенное явилось основанием для выполнения исследования, целью которого было изучить накопление мультифакториальной патологии и динамику цитогенетических эффектов в семьях детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинико-генеалогический анализ проведен в 99 семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Цитогенетическое исследование выполнено у 40 детей. Изучена динамика цитогенетических показателей у потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Группа динамического наблюдения была сформирована из детей, которые находились на диспансерном учете в 1999-2002 гг.

Интервал между цитогенетическим обследованием составил 3-3,5 года. Культивирование лимфоцитов периферической крови проводили по стандартному полумикрометоду (Hungerford D., 1965). Препараты хромосом окрашивали общепринятым способом с использованием красителя Романовского-Гимза, часть препаратов окрашивали при помощи дифференциального G-окрашивания. Идентификацию хромосом проводили по Денверской номенклатуре. От каждого пациента анализировали до 100 метафаз, отвечающих необходимым требованиям (Захаров А.Ф. и соавт., 1982). Учитывали все типы повреждений хромосом за исключением ахроматических (пробелов).

The data obtained were processed through variation statistics methods. Correlation between parents and children was calculated as correlation of qualitative indices in linked samples according to the contingency table «2×2» (Benevolenskaya L.I. et al., 1989):

$$\chi^2 = \frac{(ad - bc)^2 N}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)},$$

$$r = \sqrt{\frac{\chi^2}{N}},$$

where r -- a contingency coefficient.

Hereditability index was used to distinguish general phenotypic dispersion into environmental (E) and genetic (G) components (Fogel F., Motulsky A., 1989):

$$h^2 = G = 2r_{op}; \quad E = 1 - G_{tot},$$

where r_{op} is a correlation coefficient for the characteristic under studied -- parents-children.

RESULTS AND THEIR DISCUSSION

Clinical-genealogical analysis, carried out in families of the Chernobyl nuclear accident consequences liquidators, allowed determining that 92.9% of the examined children had hereditary predisposition to basic non-infectious diseases. So, the analysis of genealogy in the relatives of the first degree revealed prevailing cardiovascular system pathology (58.6%) and neuropsychic system disorders (57.5%). Diseases of digestive organs, urogenital and respiratory systems occurred in 22.2%, 4.1% and 1.01% of cases, respectively.

Cardiovascular system pathology occurred in 77.8% of the cases among relatives of the second degree, neoplasm - in 26.3% of the observations. Diseases of digestive, urogenital and respiratory systems occurred in 16.2%, 6.1% and 3.1% respectively.

Cardiovascular system pathology (44.4%) and oncopathology (28.3%) prevailed also among the third degree relatives. Endocrine diseases occurred in 9.1% of the relatives, urogenital and respiratory diseases -- in 2.1% and 1.01% of the relatives.

Calculation of the phenotypic parent-child correlation revealed differences in heritability parameter value (h^2) and, hence, genetic component in relation to the revealed pathologies (see table).

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики. Корреляция между родителями и детьми оценивалась как таковая для качественных признаков в связанных выборках по таблице сопряженности «2×2» (Беневоленская Л.И. и соавт., 1989):

$$\chi^2 = \frac{(ad - bc)^2 N}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)},$$

$$r = \sqrt{\frac{\chi^2}{N}},$$

где r -- коэффициент сопряженности.

Для разложения общей фенотипической дисперсии на средовую (E) и генетическую (G) компоненты использовали показатель наследуемости (Фогель Ф., Мотульски А., 1989):

$$h^2 = G = 2r_{op}; \quad E = 1 - G_{tot},$$

где r_{op} - коэффициент корреляции по изучаемому признаку родители-дети.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинико-генеалогический анализ, проведенный в семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС позволил установить, что у 92,9% обследованных детей имела место наследственная предрасположенность к основным неинфекционным заболеваниям. Так, при анализе родословных у родственников I степени родства наиболее часто наблюдалась патология сердечно-сосудистой системы (58,6%) и нервно-психической сферы (57,5%). Заболевания органов системы пищеварения, мочеполовой и дыхательной системы встречались в 22,2%, 4,1% и 1,01% случаев соответственно.

Среди родственников II степени родства патология сердечно-сосудистой системы отмечалась в 77,8% случаев, онкопатология - в 26,3% наблюдений. Заболевания пищеварительной, эндокринной и мочеполовой систем составили 16,2%, 6,1% и 3,1% соответственно.

У родственников III степени родства также доминировала патология сердечно-сосудистой системы (44,4%) и онкопатология (28,3%). Заболевания эндокринной системы встречались у 9,1% родственников, мочеполовой и дыхательной систем соответственно у 2,1% и 1,01%.

Вычисление фенотипической корреляции родитель-ребенок обнаружило различия в величине показателя наследуемости (h^2) и, следовательно, генетической компоненты в отношении установленных патологий (таблица 1).

PARENTS-CHILDREN CORRELATION AND HEREDITABILITY PARAMETERS
FOR PATHOLOGY OF SOME SYSTEMS OF ORGANISM

ТАБЛИЦА 1

КОРРЕЛЯЦИИ РОДИТЕЛИ-ДЕТИ И ПОКАЗАТЕЛИ НАСЛЕДУЕМОСТИ
ПАТОЛОГИИ ОТДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА

System	Statistic parameter	Value
Cardiovascular	r	0.084
	h ²	0.168
	E	0.832
Neuropsychic	r	0.058
	h ²	0.116
	E	0.884
Digestive	r	0.065
	h ²	0.130
	E	0.870
Endocrine	r	0.210
	h ²	0.420
	E	0.580
Urogenital	r	0.280
	h ²	0.560
	E	0.440
Respiratory	r	0.022
	h ²	0.044
	E	0.956
General pathologic affect	r	0.120
	h ²	0.240
	E	0.760

Thus, the parent-child correlation was the lowest for respiratory system pathology ($r=0.022$) and the highest - for urogenital ($r=0.280$) and endocrine ($r=0.210$) systems. For cardiovascular, neuropsychiatric and digestive systems, the parent-child correlation was 0.08, 0.058 and 0.065, respectively.

Hereditability parameter value (h^2) for urogenital system pathology was the highest and constituted 0.560. The h^2 value for respiratory and endocrine diseases was 0.440 and 0.420. This parameter value for cardiovascular and neuropsychiatric pathologies was much lower (0.168 and 0.116), respectively.

According to the presented data the value of genetic component contribution to multifactorial pathology varied from 4.4% to 56%. The total contribution of genetic component into pathologic affection of chronic non-infectious diseases among children born to parents affected by the Chernobyl accident was 24%. The environmental component contribution was 76%.

The performed analysis did not allow revealing prevailing influence of hereditary burden factors on pathology prevalence rate dynamics among the children of fathers-liquidators of the Chernobyl accident consequences.

Так, корреляция родитель-ребенок была самой низкой для патологии дыхательной системы ($r=0,022$) и наиболее высокой - для мочеполовой ($r=0,280$) и эндокринной ($r=0,210$) систем. Для сердечно-сосудистой, нервно-психической и пищеварительной систем показатель был равен 0,08, 0,058 и 0,065 соответственно.

Показатель наследуемости (h^2) для патологии мочеполовой системы был самым высоким и составил 0,560. Значение h^2 для заболеваний дыхательной и эндокринной систем были равны 0,440 и 0,420. Значительно меньшей была величина этого показателя для системы кровообращения и нервно-психической сферы (0,168 и 0,116 соответственно).

Согласно приведенным данным величина вкладов генетической компоненты в мультифакториальную патологию варьировала от 4,4% до 56%. Суммарный вклад генетической компоненты в патологическую пораженность хроническими неинфекционными заболеваниями детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС составил 24%. Вклад средовой компоненты был равен 76%.

Проведенный анализ не позволил установить преобладающего влияния факторов наследственной отягощенности на динамику патологической пораженности детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

Studies of cytogenetic parameter dynamics in children of the affected parents testified both to conservation of certain chromosome disorders and to their elimination. A comparative analysis allowed determining a significant reduction of chromosome aberration level ($p < 0.001$). Thus, in 3.5-year interval between observations, the chromosome abnormality level in children born to fathers-participants of liquidation of the ChNPP consequences was $0.53 \pm 0.15\%$ as against $1.26 \pm 0.20\%$. Dynamic study of cytogenetic parameters of the children born to liquidators of the accident revealed a 1.4 times decrease in single acentric fragments level and a 1.5 times decrease in dicentric chromosomes and centromere ruptures. However, it is necessary to note that these data had no statistically significant differences. The second cytogenetic examination allowed not only registering chromosome aberrations incidence and spectrum, but also revealing numerical chromosome disorders among children (polyploidy in peripheral blood lymphocytes). Thus, polyploidy incidence in the examined group was $2.01 \pm 0.24\%$ and had statistically significant differences as comparing with previous cytogenetic examination ($0.09 \pm 0.05\%$, $p < 0.001$).

According to some authors (Haimovich T.I. et al., 1999) this type of chromosome apparatus disorders occurs very seldom in populations non-burdened with mutagenetic factors influence, and testifies to cell division process disorder due to nondisjunction of chromosomes at division spindle arrest. It is also known that chemical mutagens can influence the cell division process, stimulating the probability of genome mutation development (polyploids, aneuploids) (Melnova N.I et al., 2002).

Thus, if taking into consideration the fact that cellular genetic apparatus of the Chernobyl nuclear power plant accident liquidators' offspring shows high sensitivity to impact of negative factors, whose number increases in human environment from year to year, it is reasonable to assume the existence of hidden instability of somatic cell genome, the reason which should be further examined in details.

Studies of cytogenetic parameter dynamics in combination with a clinical-genealogical analysis offer large opportunities for diagnostics, prevention and treatment of multifactorial diseases, and it can also be useful in predicting of remote radiation consequences among the exposed parents' offspring.

Изучение динамики цитогенетических показателей у детей ликвидаторов свидетельствовало как о консервации отдельных хромосомных нарушений, так и их элиминации. Сравнительный анализ позволил установить достоверное снижение уровня хромосомных aberrаций ($p < 0,001$). Так, при 3,5-летнем интервале между исследованиями уровень хромосомных аномалий у детей, рожденных от отцов - ликвидаторов аварии на ЧАЭС составил $0,53 \pm 0,15\%$ против $1,26 \pm 0,20\%$. Динамическое исследование цитогенетических показателей у детей, рожденных от ликвидаторов аварии на ЧАЭС определило снижение в 1,4 раза уровня одиночных ацентрических фрагментов, дицентрических хромосом и разрывов по центромере в 1,5 раза. Однако, следует отметить, что эти данные не имели статистически значимых различий. Повторное обследование позволило зарегистрировать не только частоту и спектр хромосомных aberrаций, но и обнаружить у детей ликвидаторов числовые нарушения хромосом - полиплоидию в лимфоцитах периферической крови. Так, частота полиплоидии в группе обследования составила $2,01 \pm 0,24\%$ и имела статистически значимые различия при сравнении с предыдущим цитогенетическим обследованием ($0,09 \pm 0,05\%$, $p < 0,001$).

По данным некоторых авторов (Хаймович Т.И. и соавт., 1999) этот тип нарушений хромосомного аппарата крайне редко встречается в популяциях, неотягощенных действием мутагенных факторов, и свидетельствуют о нарушении процессов клеточного деления в результате нерасхождения хромосом при блокаде веретена деления. Известно также, что химические мутагены могут влиять на процесс деления клеток, стимулируя вероятность развития геномных мутаций (полипоиды, анеуплоиды) (Мельнова Н.И и соавт., 2002).

Таким образом, учитывая тот факт, что генетический аппарат клеток потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС имеет повышенную чувствительность к негативным факторам, количество которых из года в год увеличивается в окружающей среде, правомерно предположить наличие скрытой нестабильности генома соматических клеток, причина которой нуждается в дальнейшем углубленном исследовании.

Изучение динамики цитогенетических показателей в сочетании с клинико-генеалогическим анализом открывает широкие перспективы для диагностики, профилактики и лечения мультифакториальных заболеваний, а также будет полезным в прогнозировании отдаленных последствий облучения у потомков облученных родителей.

CONCLUSIONS

Contribution of genetic factors to chronic non-infectious pathology development among the children from the Chernobyl affected families is much lower than environmental component contribution.

Comparison of the research results on cytogenetic manifestations in children from the Chernobyl affected families (fathers-liquidators) has allowed registering a decrease in chromosome disorders from $1.26 \pm 0.03\%$ to $0.53 \pm 0.15\%$.

The repeated cytogenetic examination of children has revealed a numerous chromosome disorders that allow assuming the hidden genome instability in the children, whose fathers took part in liquidation of the ChNPP accident.

REFERENCES

- Беневоленская Л.И., Мякоткин В.А., Ондрашик М., Гемер Б.* Клинико-генетические аспекты ревматических болезней. М.: Медицина, 1989, 223 с.
- [*Benevolenskaya L.I., Miakotin V.A., Ondrashik M., Gomer B.* Clinicogenetic aspects of rheumatic diseases. М.: Meditsina, 1989, 223 pp.]
- Бочков Н.П., Чеботарев А.Н.* Наследственность человека и мутагены внешней среды. М.: Медицина, 1989, 268 с.
- [*Bochkov N.P., Chebotariov A.N.* Human heredity and environmental mutagens. М.: Meditsina, 1989, 268 pp.]
- Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И.* Хромосомы человека. Атлас. М.: Медицина, 1982, 263 с.
- [*Zakharov A.F., Bengush V.A., Kuleshov N.P., Baranovskaya L.I.* Human chromosomes. Atlas. М.: Meditsina, 1982, 263 pp.]
- Лильин Е.Т., Богомазов Е.А. Гофман-Кадошников П.Б.* Генетика для врачей. М.: Медицина, 1990, 254 с.
- [*Lilin Y.T., Bogomazov Y.A. Gofman-Kadoshnikov P.B.* Genetics for doctors. М.: Meditsina, 1990, 254 pp.]
- Мазник Н.А., Винников В.А.* Динамика цитогенетических эффектов в лимфоцитах периферической крови ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Цитология и генетика,

ВЫВОДЫ

Вклад генетических факторов в развитие хронической неинфекционной патологии у детей, рожденных в семьях ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС, значительно уступает вкладу средовой компоненты.

Сопоставление результатов исследования цитогенетических эффектов у детей отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС позволило зарегистрировать снижение хромосомных нарушений с $1,26 \pm 0,03\%$ до $0,53 \pm 0,15\%$.

Повторное цитогенетическое обследование детей обнаружило многочисленные хромосомные нарушения, что позволяет предположить скрытую нестабильность генома у детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

1997; 31(6): 41-46.

[*Maznik N.A., Vinnikov V.A.* Cytogenetic effect dynamics in peripheral blood lymphocytes of the Chernobyl accident consequences eliminators. Cytology and genetics, 1997; 31(6): 41-46]

Мельнова Н.И., Гапанович В.Н. Изучение мутагенных и канцерогенных свойств нового противоанемического средства спейсферы. Экологическая антропология, 2002, 335-338.

[*Melnova N.I., Gapanovich V.N.* The study of mutagenic and carcinogenic properties of spacesphere a new antianemic agent. Ecological anthropology, 2002, 335-338]

Нефедов И.Ю., Нефедова И.Ю., Палыга Г.Ф. Некоторые методологические аспекты экспериментального моделирования и оценки наследственных последствий облучения одного и обоих родителей. Радиационная биология. Радиоэкология, 1996; 36(6): 912-920.

[*Nefiodov I.Yu., Nefiodova I.Yu., Palyga G.F.* Some methodological aspects of experimental modeling and evaluation of hereditary consequences of irradiating one parent and both parents. Radiation biology. Radio-ecology, 1996; 36(6): 912-920]

Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: В 3-х т. М.: Мир, 1989; 3: 312 с.

[*Fogel F., Motulsky A.* Human genetics: in 3 books. М.: Mir, 1989; 3: 312 pp.]