

УДК 575.224.4

АНАЛИЗ УРОВНЯ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗА У РАБОТНИКОВ ЗАВОДА ПО ПРОИЗВОДСТВУ ПЛАСТИКА Г. ТАИЗ ЙЕМЕНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Саид А.Д.¹, Иванов В.П.¹, Трубникова Е.В.¹, Комкова Г.В.²

¹ ФГБОУ ВПО «Курский государственный университет», НИЛ «Генетика» (305000, г. Курск, ул. Кирова, 5), e-mail: kurskgu@kursk-uni.ru

² БМУ «Курская областная клиническая больница» (305007, г. Курск, ул. Сумская, 45а), e-mail: okb@kurskokb.ru

Впервые проведен анализ aberrаций метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови у работников завода по производству пластика г. Таиз Йеменской Республики. Выявлены основные типы хромосомных aberrаций. Количество поврежденных хромосом составило $3,44 \pm 0,42\%$, разрывов – $3,46 \pm 0,42\%$, доминировали одиночные фрагменты с частотой $2,36 \pm 0,26\%$, частота парных фрагментов соответствовала $0,79 \pm 0,14\%$. Определена средняя частота встречаемости клеток с хромосомными aberrациями ($3,39 \pm 0,42\%$). Дигентрические хромосомы без парных фрагментов встречались с частотой 0,04 на 100 клеток, что может говорить о хронизации мутагенных эффектов в соматических клетках работников вредного производства.

Ключевые слова: уровень спонтанного мутагенеза, хромосомные aberrации, одиночные и парные фрагменты, хроматидные и хромосомные обмены.

ANALYSIS OF SPONTANEOUS MUTAGENESIS LEVEL, IN PLASTIC FACTORY WORKERS TAIZ CITY, IN YEMEN REPUBLIC

Said A.D.¹, Ivanov V.P.¹, Trubnikova E.V.¹, Komkova G.V.²

¹ Kursk State University, Scientific Research Laboratory "Genetics", Kursk, 305000, Kirov street., 5, E-mail: kurskgu@kursk-uni.ru

² Kursk Regional Hospital, Kursk, 305007, st. Sumsкая, 45a, E-mail: okb@kurskokb.ru

We have done the first analysis of aberrations metaphase chromosomes of peripheral blood lymphocytes in plastic factory workers Taiz city, in Republic of Yemen. The basic types of chromosomal aberrations., Number of damaged chromosomes was $3,44 \pm 0,42\%$, breaks - $3,46 \pm 0,42\%$, dominated by single fragments with a frequency of $2,36 \pm 0,26\%$, the frequency of binary fragments corresponded $0,79 \pm 0,14\%$. Determine the average frequency of cells with chromosome aberrations ($3,39 \pm 0,42\%$). Digenetric chromosomes without paired fragments occur with a frequency of 0.04 per 100 cells, which may indicate chronic mutagenic effects in somatic cells, harmful production workers.

Key words: The level of spontaneous mutagenesis; chromosomal aberrations; single and doubles fragments; chromatid and chromosome aberrations component.

Введение

В настоящее время доказано, что распространение химикатов в окружающей среде приводит к формированию дефектов ДНК и повреждениям хромосом [1; 3; 4; 6]. Многочисленные исследования недавних лет показали, что химические мутагены на несколько порядков превышают активность радиации, часто обладают значительно более специфическим и более тонким действием на клетку [7].

Вместе с этим отдельную опасность представляют изначально немутагенные химические вещества, которые, включаясь в метаболизм организма, превращаются в потенциальные

мутагены. Другие трудности связаны с поглощением, распределением по разным системам органов и выделением или, если выделение невозможно, накоплением этих веществ [5].

Список известных химических мутагенов насчитывает десятки веществ, классифицируемых по числу главных функциональных центров, и десятки в расчете на их производные. Вместе с тем накапливаются новые сведения о тонких механизмах действия мутагенов, поэтому систематика их, основанная на особенностях химического строения, взаимодействия с генетическим материалом, своеобразия биологического эффекта, представляет определенные трудности [5].

Вредное генетическое действие химических препаратов очень трудно выявить – попытки оценить генетическую опасность химических веществ, находящихся в окружающей среде, наталкиваются на очень серьезные трудности.

Идеи устойчивого развития, которые в настоящее время активно обсуждаются всем мировым сообществом, непосредственным образом затрагивают развивающиеся страны, в том числе и Йемен, в которых уровень экономического развития существенно отстает от уровня развитых стран, а поэтому естественно стремление его поднять, сохранив при этом природную среду для будущих поколений. Развивающиеся страны оказались в наиболее сложной ситуации. Так как в них идет развитие промышленного производства и, следовательно, возрастает нагрузка на окружающую среду, усиливается глобализация антропогенного влияния. Одним из таких предприятий в Республике Йемен является завод, производящий пластмассу.

Пластмассы производят в основном путем полимеризации или поликонденсации синтетических смол. При большом разнообразии используемых химических веществ, количества технологических процессов производство пластмасс и синтетических материалов имеет общие элементы, которые влияют на окружающую среду, условия труда и здоровья человека. Сырье, то есть специальные полимерные смолы, производится в условиях вакуума, иногда под давлением и при нагревании. В этой стадии технологического процесса возможно выделение токсичных паров и газов (фенола, формальдегида, стирола, фталевого ангидрида, хлористого ванилина и многих других) при сопровождении тепловых выбросов. Кроме смол, в состав пластмасс входят некоторые вспомогательные материалы, а именно пластификаторы, стабилизаторы и другие. Многие из них имеют токсические свойства. Изготовление пластмасс и других синтетических материалов из этих порошков сопровождается выделением в воздух пыли, газов, теплоты, появляются электрические и электромагнитные поля. Все перечисленные

факторы негативно влияют на генетический аппарат человека. Комплексного исследования по оценке уровня хромосомных aberrаций на вредных производствах для Республики Йемен не проводилось. В литературе отсутствуют сведения о каких-либо результатах цитогенетического мониторинга генотоксических эффектов для населения крупного промышленного региона.

В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка уровня спонтанного мутагенеза у работников завода по производству пластика г. Таиз Йеменской Республики.

Материалы и методы

Проведено цитогенетическое обследование группы рабочих завода по производству пластика г. Таиз Йеменской Республики и людей, проживающих в ближайших населенных пунктах в радиусе одного километра от завода.

Состояние здоровья оценивали устным анкетированием обследуемых в сочетании с анализом индивидуальных медицинских карт. Одновременно учитывали наличие вредных привычек (курение). Все обследуемые к моменту сбора материала были практически здоровы, не принимали лекарственных препаратов и в течение 3 месяцев до начала исследования не подвергались рентгенологическим обследованиям.

Всего было обследовано 70 человек, из них 40 женщин и 30 мужчин. Возраст обследованных варьировал в пределах 18-64 лет при среднем значении – 35 лет.

Материалом для исследования являлась цельная периферическая кровь, которую забирали у доноров в асептических условиях, с немедленным помещением в гепаринизированный флакон (разведение 1:10). Посев культур проводили в течение суток после взятия материала.

Для анализа хромосом осуществляли подготовку препаратов с использованием стандартного полумикрометода культивирования лимфоцитов [3].

Культивирование клеток крови осуществляли по стандартному полумикрометоду [8]. Питательную смесь готовили из расчета: среда RPMI-1640 (4 мл), сыворотка крупного рогатого скота (1 мл) и 0,1 мл фитогемагглютина (ПанЭко). Смесь помещали в стерильные культуральные флаконы и добавляли 0,5 мл гепаринизированной крови. Культуральные флаконы выдерживали при 37 °С в течение 48 ч. За 2 часа до фиксации в культуры вводили колхицин (0,5 мкг/мл). После гипотонической обработки и фиксации клеток суспензию раскапывали на охлажденные чистые предметные стекла и высушивали над пламенем

спиртовки. Препараты окрашивали 1%-ным красителем Гимза (Merk) и анализировали под микроскопом Axioskop 2 plus (Carl Zeiss).

Фиксацию материала проводили в 3 сменах охлажденного этанол-уксусного фиксатора (3:1). Клеточную суспензию раскапывали на химически чистые охлажденные, смоченные водой предметные стекла. Препараты сушили над пламенем спиртовки, шифровали и окрашивали 2%-ным раствором красителя Гимзы.

Для учета хромосомных aberrаций (ХА) у каждого индивида проанализировано по 100 метафаз. Регистрировали aberrации хромосомного и хроматидного типов в соответствии с общепринятыми требованиями [2]. Пробелы в анализ не включали. Уровень ХА определяли путем подсчета частоты метафаз с aberrациями хромосом (в процентах от изученного числа клеток).

Учет хромосомных aberrаций проводили согласно общепринятым требованиям [2]. Для оценки цитогенетических эффектов определяли общее количество aberrаций и их качественный спектр на 100 проанализированных метафаз от каждого донора.

Всего проанализировано 7000 клеток (3000 мужчин, 4000 женщин).

Статистическую обработку фактического материала проводили с использованием программы STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

В первую очередь было проведено обследование лиц, работающих на заводе по производству пластика в г. Таиз ЙР, без сегрегации по полу с целью анализа общего уровня мутагенеза на предприятии. Оценивались как основные, так и вспомогательные цитогенетические показатели по мутагенезу. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика цитогенетических показателей выборки завода по производству пластика (на 100 клеток)

Цитогенетический показатель	Всего (N=70)	Мужчины (N=30) I	Женщины (N=40) II	t (p) I-II	F (p) I-II
	M±m	M±m	M±m		
Количество aberrантных клеток	3,30±0,40	3,57±0,73	3,10±0,44	0,51(0,61)	2,05(0,04)

Частота aberrаций	3,39±0,42	3,63±0,75	3,20±0,48	0,51(0,61)	1,83(0,08)
Частота одиночных фрагментов	2,46±0,33	2,60±0,58	2,35±0,39	0,37(0,71)	1,67(0,14)
Частота хроматидных обменов	0,13±0,07	0,24±0,15	0,05±0,03	1,42(0,61)	3,06(0,01)
Частота парных фрагментов	0,79±0,14	0,80±0,27	0,78±0,15	0,09(0,93)	2,56(0,01)
Частота хромосомных обменов	0,09±0,03	0,13±0,06	0,05±0,03	1,23(0,22)	2,45(0,01)
Частота разрывов	3,46±0,42	3,70±0,75	3,28±0,49	0,49(0,62)	1,79(0,09)
Частота поврежденных хромосом	3,44±0,42	3,67±0,73	3,28±0,49	0,46(0,65)	1,69(0,12)

M – средняя арифметическая;

m – ошибка среднего;

* – различия статистически достоверны при $p < 0,05$.

Анализ цитогенетических показателей всей выборки показал, что средняя частота aberrаций на 100 клеток составила $3,39 \pm 0,42\%$. Количество поврежденных хромосом составило $3,44 \pm 0,42\%$, разрывов – $3,46 \pm 0,42\%$. Основным типом aberrаций при этом были одиночные фрагменты ($2,36 \pm 0,26\%$), они встречались в три раза чаще парных ($0,79 \pm 0,14\%$). Хроматидные и хромосомные обмены в данной выборке встречались в $0,13 \pm 0,07\%$ случаях и $0,09 \pm 0,03\%$ соответственно.

Дицентрические хромосомы без парных фрагментов встречались с частотой 0,04 на 100 клеток, что может говорить о хронизации мутагенных эффектов в соматических клетках работников вредного производства.

Полученные данные по частоте aberrантных клеток и количеству всех aberrаций указывают, что в подавляющем большинстве aberrантных клеток имелось по 3 aberrации.

Сравнительный анализ полученных цитогенетических показателей, при разделении по полу, статистически значимых различий между средними величинами ни по одному из

признаков не выявил. Были обнаружены статистически значимые различия в показателях дисперсии по некоторым признакам (таблица 1).

Сравнительный анализ между группами курящих и некурящих мужчин и женщин во всей выборке (таблица 2) показал достоверные различия между количеством aberrаций на 100 клеток, частотой поврежденных хромосом, разрывами, и структурой ХА – одиночными фрагментами.

Таблица 2 – Сравнительная оценка между группами курящих и некурящих мужчин и женщин в выборке завода по производству пластика г. Таиз Йеменской Республики

Цитогенетический показатель	Сравнение курящих и не курящих	
	t (p)	F (p)
Частота aberrаций	2,36 (0,02) *	3,84 (0,01)*
Частота одиночных фрагментов	2,27 (0,03) *	5,13 (0,01)*
Частота хроматидных обменов	1,42 (0,16)	13,06 (0,01)
Частота парных фрагментов	1,11 (0,27)	2,72 (0,01)
Частота хромосомных обменов	1,23 (0,22)	2,45 (0,01)
Частота разрывов	2,34 (0,02) *	3,59 (0,01)*
Частота поврежденных хромосом	2,33 (0,02) *	3,44 (0,01)*

M – средняя арифметическая;

* – различия статистически достоверны при $p < 0,05$.

Среди мужчин 70,0% было курящих, среди женщин – 22,5% от всей выборки.

Выводы

1. Частота aberrаций на 100 клеток у работников производства составила $3,39 \pm 0,42\%$ и превышала в три раза показатели контрольной выборки.

2. Уровень структурных aberrаций хромосом в профессиональных контингентах не зависит от пола и возраста.

3. В исследуемой группе общее увеличение частоты aberrаций достигается за счет одиночных фрагментов.

4. Дицентрические хромосомы без парных фрагментов встречались с частотой 0,04 на 100 клеток, что может говорить о хронизации мутагенных эффектов в соматических клетках работающих во вредных цехах производства.

5. Курение является фактором слабой модификации частоты aberrаций в условиях изученного производства. Фактор курения оказывал влияние на увеличение числа ХА обследуемых лиц на заводе по производству пластика.

Выполнено по ГК № 16.740.11.0745 от 21.10.2010.

Список литературы

1. Бигалиев А.Б., Краусс Э.В. Цитогенетический мониторинг населения из экологически неблагоприятных районов // Цитология и генетика. – 1992. – Т. 26. – С. 64-66.
2. Бочков Н.П., Шрам Р.Я., Кулешов Н.П. и др. Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, методические рекомендации и практические разработки // Генетика. – 1975. – Т. 11. – С. 156-169.
3. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М. : Медицина, 1989. – 272 с.
4. Гичев Ю.П. Загрязнение окружающей среды и экологическая обусловленность патологии человека // Экология. Серия аналитических обзоров мировой литературы. – 2003. – № 68. – С. 1-138.
5. Рапопорт И.А. Супермутагены. – М. : Наука, 1966. – С. 5-8.
6. Черепнев и соавт. Общие вопросы антимутагенной защиты организма // Вестник РАМН. – 1999. – № 1.
7. Black W.C. Chemical and gamma-ray mutagenesis of the white gene in *Aedes aegypti*. Insect molecular biology. – 2000. – V. 9. – Issue 2. – 119 p.
8. Hungerford P.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. – 1965. – V. 40. – P. 333-338.

Рецензенты

Полоников Алексей Валерьевич, д.м.н., профессор, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, Курский государственный медицинский университет, г. Курск.

Солодилова Мария Андреевна, д.б.н., профессор, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, Курский государственный медицинский университет, г. Курск.