

УДК 57.044 : 615.099

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

Т.В. Харченко^{1,2}, Л.Г. Аржавкина¹,
А.В. Язенок¹, Д.И. Синячкин¹,
А.Н. Жекалов¹

¹ ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Генотоксическое действие сверхмалых доз токсичных химикатов может являться одним из механизмов возникновения отдаленных эффектов для здоровья. Для его оценки проведен анализ хромосомных aberrаций (ХА) у 138 человек из числа персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия (Объектов). Контрольная группа составила 55 человек. Показано статистически значимое увеличение уровня ХА ($5,10 \pm 0,29$ против $1,67 \pm 0,21$; $U=1471$; $p=0,0001$), главным образом за счет ХА хроматидного типа – одиночных фрагментов ($3,98 \pm 0,25$ против $1,20 \pm 0,16$, $U=1503$; $p=0,0001$) и хроматидных обменов, ($0,12 \pm 0,03$ против $0,00 + 0,03$, $U=3248$; $p=0,002$), что является характерным для химического мутагенеза. Наблюдалось также статистически значимое увеличение уровня нестабильных обменных aberrаций хромосомного типа ($0,17 \pm 0,03$ против $0,03 \pm 0,02$; $U=3190$; $p=0,003$), возможно, за счет синергетического действия токсикантов и физических факторов. Среднее число ХА на одну клетку значительно превышало контрольные значения ($1,09 \pm 0,02$ против $1,00 \pm 0,00$; $U=2733$; $p=0,0001$). Показаны статистически значимые различия в распределении лиц с различным уровнем ХА среди персонала Объектов и в контрольной группе. Полученные данные говорят о выраженном генотоксическом эффекте и возможности использования анализа ХА для оценки индивидуального профессионального риска у персонала Объектов.

Ключевые слова: генотоксичность, химическое оружие, хромосомные aberrации, генетический риск, отдаленные последствия для здоровья.

Введение. Обеспечение безопасности, в том числе жесткий контроль за состоянием здоровья персонала, включая снижение риска возникновения отдаленных эффектов для здоровья, является одной из ключевых задач процесса уничтожения химического оружия [1],

Генотоксические эффекты в виде мутаций, возникающих в соматических клетках, являются важнейшим из механизмов как формирования непосредственно токсических эффектов через изменение экспрессии генов [2], так и возникновения отдаленных последствий для здоровья.

Персонал Объектов постоянно контактирует с токсичными химическими веществами, в мониторинг Объектов включено более 300 приоритетных загрязнителей, наиболее опасных в токсикологическом и эколого-гигиеническом плане. В режиме штатного функционирования концентрация каждого из токсикантов находится в пределах ПДК, однако их сочетанное действие может вызывать синергетический эффект. Кроме того, в настоящее время при оценке опасности мутагенов для человека принята концепция беспороговости, согласно которой

Харченко Татьяна Владимировна (Kharchenko Tatyana Vladimirovna), кандидат биологических наук, зав. кафедрой медицинской генетики ФГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, tatyana.kharchenko@szgmu.ru

Аржавкина Лейла Гусейновна (Arjavkina Leyla Guseinovna), кандидат биологических наук, ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация vanadzor_@ Rambler.ru

Язенок Аркадий Витальевич (Yazенок Arcadij Vital' evich) доктор медицинских наук, доцент кафедры военно-полевой терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация arkuzenok@yandex.ru .

Синячкин Дмитрий Александрович (Siniachkin Dmitriy Aleksandrovich) кандидат медицинских наук, ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация d.sinyachkin@mail.ru

Жекалов Андрей Николаевич (Zhekalov Andrey Nikolaevich) доктор медицинских наук, нач. НИЛ военной терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

генотоксические эффекты могут быть вызваны сколь угодно малыми дозами мутагенов [3]. Риск развития неблагоприятного эффекта для здоровья, особенно при воздействии низких эффективных доз, может существенно изменяться благодаря межиндивидуальным генетическим различиям, у лиц с повышенной чувствительностью нельзя исключить возникновения генотоксического эффекта даже при соблюдении гигиенических нормативов [4].

Анализ ХА является одним из наиболее чувствительных методов оценки генотоксичности. Изменения уровня ХА не только позволяют оценивать наличие воздействия, но и являются биоиндикаторами риска для здоровья. При этом имеет значение не только общий уровень ХА, но и характер возникающих нарушений [5]. В связи с этим анализ ХА у персонала Объектов представляется весьма актуальным.

Материалы и методы исследования. Обследовано 138 мужчин из числа персонала Объектов хранения и уничтожения химического ору-

жия в возрасте от 22 до 48 лет (средний возраст $33,8 \pm 0,64$). Контрольную группу составили 55 мужчин, не имевших отношения к работе с химическим оружием и не проживающих на территориях, где располагаются Объекты. Средний возраст в этой группе составил $31,7 \pm 2,5$ год. Анализ хромосомных aberrаций проводили в культивированных лимфоцитах периферической крови в соответствии с критериями ВОЗ [6], учитывали все нестабильные ХА, распознаваемые без дифференциального окрашивания. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica for Windows 6.0 с использованием непараметрических критериев: Манна-Уитни и точного критерия Фишера.

Результаты и обсуждение. В результате проведенного исследования установлено, что и общий уровень ХА, и частоты отдельных типов aberrаций у персонала Объектов в статистически значимо превышали контрольные значения (табл. 1).

У персонала Объектов выявлены одиночные

Таблица 1

Частота и спектр хромосомных aberrаций у персонала Объектов и в контрольной группе

Показатель	Персонал	Контроль	U-критерий	p
Обследовано лиц	138 человек	55 человек		
Всего проанализировано метафаз	22765	9353		
Среднее число проанализированных метафаз	$165,2 \pm 4,78$	$170,05 \pm 5,32$		
Общая частота ХА –	$5,11 \pm 0,29$	$1,67 \pm 0,23$	1471	0,0001
Число ХА на одну aberrантную метафазу	$1,09 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,00$	2733	0,0001
Одиночные фрагменты	$3,98 \pm 0,25$	$1,20 \pm 0,16$	1503	0,0001
Хроматидные обмены–	$0,12 \pm 0,03$	$0,00 \pm 0,03$	3248	0,002
Дицентрики + кольца	$0,17 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02$	3190	0,003
В т.ч. кольцевые хромосомы	$0,05 \pm 0,02$	$0,00 \pm 0,03$	3528	0,002
Атипичные моноцентрики	$0,08 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,02$	3581,5	0,1
Парные фрагменты	$0,65 \pm 0,08$	$0,41 \pm 0,08$	3380,5	0,1
Мультиaberrантные клетки	$0,09 \pm 0,02$	$0,00 \pm 0,03$	3144	0,002

и парные фрагменты, хроматидные обмены, дицентрические и кольцевые хромосомы, атипичные моноцентрики, клетки с множественными нарушениями.

Как видно из данных таблицы, общий уровень ХА у персонала Объектов многократно превышает контрольные показатели ($5,10 \pm 0,29$ vs. $1,67 \pm 0,21$, $U=1471$; $p=0,0001$). Основной вклад в структуру ХА вносят aberrации хроматидного типа: одиночные фрагменты ($3,98 \pm 0,25$ vs. $1,20 \pm 0,16$, $U=1503$; $p=0,0001$) и хроматидные обмены ($0,12 \pm 0,03$ vs. $0,00 \pm 0,03$, $U=3248$, $p=0,002$), что является характерным для химического мутагенеза.

Наряду с этим в обследованной группе наблюдался неожиданно высокий уровень нестабильных обменных aberrаций хромосомного типа ($0,17 \pm 0,03$ vs. $0,03 \pm 0,02$, $U=3190$, $p=0,003$), что может свидетельствовать о синергетическом действии на персонал комплекса токсикантов и факторов физической природы.

Частота кольцевых хромосом у персонала Объектов составила $0,05 \pm 0,02$, в контрольной группе кольцевые хромосомы не встречались ($U=3528$; $p=0,002$) что закономерно, поскольку в контрольных популяциях по России кольцевые хромосомы встречаются с частотой 1 на 10 000 клеток [7].

Обменные aberrации хромосомного типа способны персистировать в организме длительное время [8] и их появление может являться пусковым механизмом процессов возникновения отдаленных последствий для здоровья, при этом

риск для здоровья особенно велик у носителей кольцевых хромосом [9].

Групповая частота не дает адекватного представления об индивидуальных показателях, поэтому мы дополнительно проанализировали распределение лиц с различным уровнем ХА, а также частоту встречаемости лиц, несущих обменные aberrации. Среди персонала Объектов обменные aberrации хромосомного типа имели 38 человек (27,3%), в то время как из 55 лиц контрольной группы они встречались только у 3-х (5,45%), $p=0,0003$ (рис. 1).

Согласно современным представлениям максимально возможная величина спонтанного увеличения числа ХА у отдельного индивидуума составляет 2,5% [10]. Уровень ХА свыше 2,5% относятся к категории генетического риска [11], причем уровень от 2,5 до 5% является показателем повышенного генетического риска, свыше 5% и до 10% включительно - высокого и свыше 10% - сверхвысокого. Распределение обследованных по группам с различным уровнем ХА не только является важной характеристикой когорты, но и помогает выделить группы для углубленного мониторингового наблюдения.

Мы проанализировали распределение лиц, относящихся к различным категориям генетического риска в группе персонала Объектов и в контрольной группе (рис. 2). В контрольной группе 76,86% обследованных (42 человека из 55) составили лица, с нормальным уровнем ХА, 20,0% (11 человек) обследованных относят-

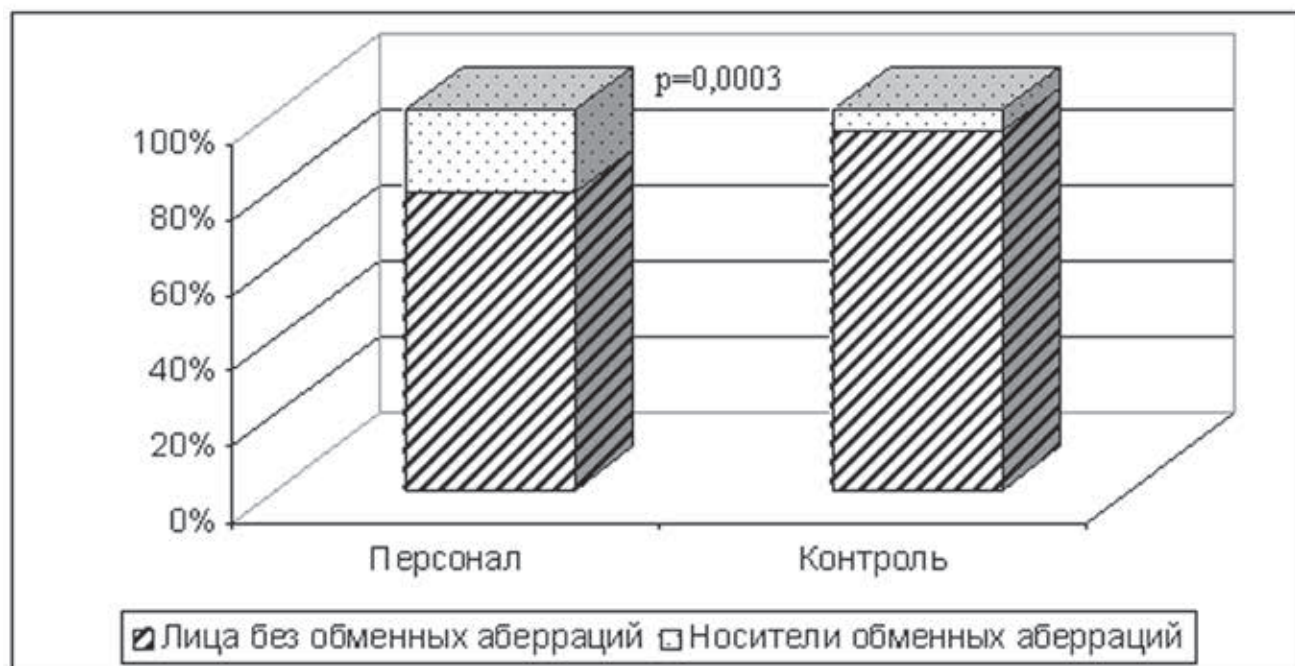


Рис. 1. Доля носителей обменных aberrаций хромосомного типа среди персонала Объектов и в контрольной группе

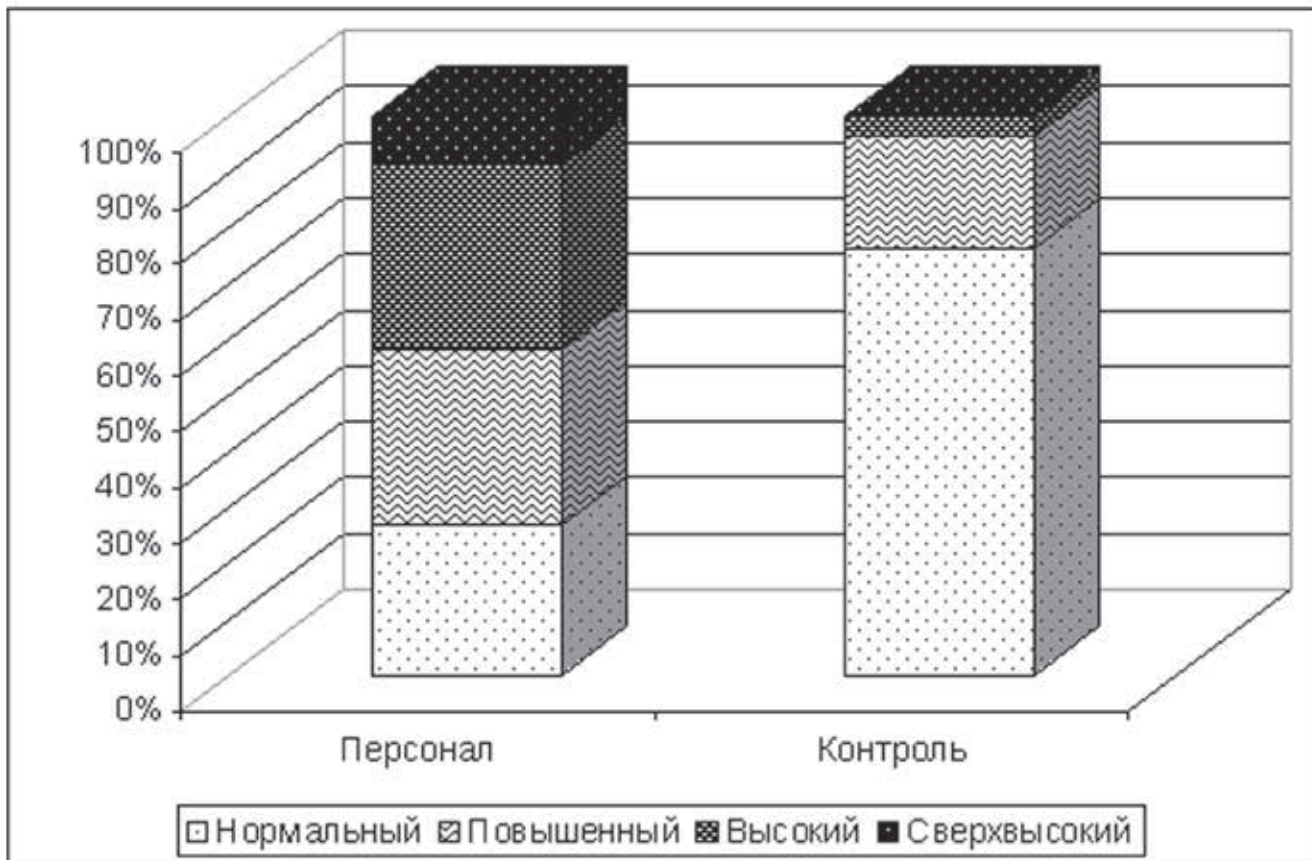


Рис. 2. Распределение групп с различным уровнем генетического риска у персонала Объектов и в контроле.

ся к группе повышенного генетического риска и лишь 3,6% - (2 человека) к группе высокого риска. Лиц со сверхвысоким уровнем ХА в контрольной группе не было.

У персонала Объектов нормальный уровень ХА наблюдался лишь у 26,81% (37 человек). К категории повышенного генетического риска относятся 31,6% персонала (42 человек), высокого риска – 33,33% (46 человек) и 8,7% (12 человек) можно было отнести к группе сверхвысокого генетического риска. Доля лиц, относящихся к категории высокого и сверхвысокого цитогенетического риска, превышала аналогичный показатель в контрольной группе в 11,7 раза ($p=0,0000$). Важным критерием, отражающим глубину цитогенетических повреждений, является число ХА на одну aberrантную метафазу. В контрольной группе среднее число aberrаций на одну aberrантную метафазу равнялось единице. В группе персонала среднее число ХА на aberrантную метафазу составило $1,11 \pm 0,02$, ($U = 2733$, $p=0,0001$). При этом со статистически значимой частотой ($0,09 \pm 0,02$; $U=3144$; $p=0,002$) наблюдались отсутствующие в контроле клетки с множественными повреждениями, содержащие не менее

двух обменных aberrаций или одной обменной и 4 фрагментов, что может свидетельствовать о нарушении процессов репарации поврежденного ДНК.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что у персонала Объектов наблюдается уровень ХА, статистически значимо превышающий контрольный, причем при высоком среднегрупповом уровне ХА наблюдался широкий индивидуальный разброс показателей.

Специфика работы на Объектах предполагает невозможность учета всех действующих на персонал токсикантов. Кроме того, дополнительные физические и психоэмоциональные факторы, различные индивидуальные особенности отдельных лиц могут существенно модифицировать их эффективность, что затрудняет разработку объективных критериев оценки индивидуального профессионального риска.

В этих условиях исследования ХА, позволяющие оценить уровень генотоксических повреждений у каждого конкретного человека являются незаменимыми.

Заключение. Многократное повышение частоты и изменение спектра ХА с появлением

большого количества обменных аберраций, увеличение числа ХА на одну аберрантную метафазу говорят о выраженном генотоксическом эффекте у персонала Объектов. Отличительной особенностью проявления генотоксического действия Объектов является высокая частота обменных аберраций как хроматидного, так и хромосомного типа, в том числе коль-

цевых хромосом, высокая частота клеток, несущих множественные обменные аберрации, а также значимое увеличение доли лиц, относящихся к категории высокого и сверхвысокого генетического риска. Цитогенетические показатели могут стать одним из объективных критериев оценки индивидуального профессионального риска у персонала Объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко О.А., Лось С.П. Система гигиенических мероприятий по профилактике заболеваний персонала, занятого на работах по уничтожению химического оружия. // Теоретическая и прикладная экология. – 2013. 4.98-103.
 2. Mendrick D. L. Toxicogenomics and Classic Toxicology: How to Improve Prediction and Mechanistic Understanding of Human Toxicity Essential Concepts in Toxicogenomics / Edited by, W. B. Mattes Humana Press 2008: 277.
 3. Дубинин Н.П. Избранные труды. Т.2. Радиационный и химический мутагенез М.: Наука, 2000: 466.

4. Каспаров А.А., Рева В.Д., Уйба В.Д. Основы безопасности, профессиональной и экологической медицины при уничтожении химического оружия в России. (Руководство для врачей) М.: ФГОУ ИПК ФМБА России, 2008. 743.
 5. Silins I., Högborg J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2011; 3: 629-647.
 6. International programme on chemical safety. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations. Environmental health criteria 46. Geneva: WHO; 1985: 126.

7. Севаньяев А.В., Хвостунов И.К., Снигирева Г.П. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. 53,(1):5-24.
 8. Mészáros G., Bognár G., Kóteles G.J. Long-term persistence of chromosome aberrations in uranium miners. // Occup Health. 2004 (4):310-315.
 9. Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Stromberg U. et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a

pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries // Carcinogenesis. – 2008. 29, (6):1178-1183.
 10. Wang Y., Yang H, Li L, Wang H, Xia X, Zhang C. Biomarkers of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes induced by polycyclic aromatic hydrocarbons: a meta-analysis // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 2012. 85, (1):13-25.
 11. Назаренко С.А., Попова Н.А., Назаренко Л.П., Пузырев А.П. Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье. // Томск: Печатная мануфактура, 2004:272 .

REFERENCES:

1. Vasilenko O.A., Los' S.P. The system of hygienic measures for the prevention of diseases of personnel involved in work on chemical weapons destruction // Teoreticheskaya i prikladnaya ekhologiya. 2013. 4.98-103. . (in Russian).
 2. Mendrick D. L. Toxicogenomics and Classic Toxicology: How to Improve Prediction and Mechanistic Understanding of Human Toxicity Essential Concepts in Toxicogenomics / Edited by, W. B. Mattes Humana Press 2008: 277.
 3. Dubinin N.P. Selected works. Vol. 2. Radiation and chemical mutagenesis // M.: Nauka, 2000: 466. . (in Russian).

4. Kasparov A.A., Reva V.D., Ujba V.D. Foundation of safety, professional and ecological medicine during the chemical warfare destruction in Russia. (Handbook for phisytians) // M.: FGOU IPK FMBA Rossii, 2008. 743... (in Russian).
 5. Silins I., Högborg J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2011; 3: 629-647.
 6. International programme on chemical safety. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations. Environmental health criteria 46. Geneva: WHO; 1985: 126.

7. Sevan'kaev A.V., Khvostunov I.K., Snigireva G.P., Novitskaia N.N., Antoshchina M.M., Fesenko E.V. et al [Comparative analysis of cytogenetic examination of control groups of subjects carried out in different Russian laboratories]. Radiats. Biol. Radioecol. 2013; 53(1): 5-24. (in Russian).
 8. Mészáros G., Bognár G., Kóteles G.J.. Long-term persistence of chromosome aberrations in uranium miners. // Occup Health. 2004 (4):310-315.
 9. Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Stromberg U. et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort

study of 22 358 subjects in 11 countries // Carcinogenesis. – 2008. 29, (6):1178-1183.
 10. Wang Y., Yang H, Li L, Wang H, Xia X, Zhang C. Biomarkers of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes induced by polycyclic aromatic hydrocarbons: a meta-analysis // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 2012. 85, (1):13-25.
 11. Nazarenko S.A., Popova N.A., Nazarenko L.P., Puzyrev A.P. Nuclear chemical enterprises and genetic health Tomsk. Pechatnaya manufaktura , 2004. 272 (in Russian).

T.V. Kharchenko ^{1,2}, L.G. Arjavkina ¹, A.V. Yazenok ¹, D.A. Siniachkin ¹, A.N. Zhekalov ¹

GENOTOXIC ALTERATIONS IN THE PERSONNEL OF CHEMICAL STOCKPILE DISPOSAL FACILITIES.

¹S.M. Kirov Military Medical Academy, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation.

²I.I. Mechnikov, North-Western State Medical University, 191015, Saint-Petersburg, Russian Federation

Genotoxic effect of ultra-low doses of toxic chemicals may cause delayed health effects. For their assessment, chromosomal aberrations (CA) in 138 persons from among the staff of chemical weapons storage and destruction facilities(objects) were analyzed. The control group consisted of 55 people. A statistically significant increase in levels of CA (5.10 ± 0.29 vs. 1.67 ± 0.21; U = 1471; p = 0.0001) was shown, mainly due to chromatid -type CA -single pieces (3.98 ± 0.25 versus 1.20 ± 0.16, U = 1503; p = 0.0001) and chromatid exchanges, (0.12 ± 0.03 vs. 0.00 ± 0.03, U = 3248; p = 0,002), which is typical to chemical mutagenesis. A statistically significant increase in the level of unstable exchanges of chromosomal-type aberrations (0.17 ± 0.03 vs. 0.03 ± 0.02; U = 3190 p = 0.003) was also observed, possibly due to the synergistic action of toxicants and physical factors. An average number of CA per cell was significantly higher than the control values (1.09 ± 0.02 vs. 1.00 ± 0.00; U = 2733; p = 0.0001). Statistically significant differences in the distribution of individuals with different levels of CA among employees of the objects and in the control group were shown. Data obtained suggest a pronounced genotoxic effect and the possibility of using CA analysis to assess individual professional risk to the staff of the objects.

Keywords: genotoxicity; chemical weapon; chromosomal aberrations; genetic risk, delayed health effects.

Материал поступил в редакцию 24.05.2016 г.