

УДК 504.75.05

А.В. Корсаков

## **МНОГОФАКТОРНОЕ ТЕХНОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ КАК ФАКТОР РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У НАСЕЛЕНИЯ**

Рассмотрена возможность применения микроядерного теста в буккальном эпителии при сравнении химического, радиационного и сочетанного радиационно-химического загрязнения среды. При сочетанном влиянии химического и радиационного факторов выявлено возможное проявление как аддитивных эффектов, так и синергизма и ингибирования. Сделан вывод, что цитогенетические характеристики буккального эпителия могут использоваться как биологический дозиметр суммарного уровня загрязнения окружающей среды.

Ключевые слова: окружающая среда, химическое загрязнение, радиоактивное загрязнение, сочетанное загрязнение, буккальный эпителий, цитогенетические нарушения, микроядерный тест.

Состояние окружающей природной среды обычно оценивается по присутствию тех или иных физических, химических и биологических загрязнителей. По официальным оценкам [3], 57% городского населения России подвергается высокому и очень высокому уровню загрязнения атмосферного воздуха. По-видимому, эти оценки не вполне корректны, так как экологический мониторинг учитывает несколько десятков веществ-загрязнителей (из нескольких сотен), регулярно и в больших количествах выбрасываемых в атмосферу учитываются бензопирен, формальдегид, фенол, оксид и диоксид азота, фтористый и хлористый водород, этилбензол, сероводород, сероуглерод, взвешенные вещества). Такая же ситуация с питьевой водой (из сотен веществ учитываются лишь нефтепродукты, некоторые тяжелые металлы и хлорорганические пестициды, нитриты, фосфаты, сульфаты, СПАВ и некоторые другие). При этом стандартным мониторингом учитываются порой не самые токсичные поллютанты [17]. Сходное положение и с физическими загрязнениями: в окружающей среде в результате испытаний атомного оружия, аварий на атомных электростанциях и работы промышленности находятся десятки долгоживущих антропогенных радионуклидов – источников опасных альфа- и бета-частиц и гамма-квантов (в том числе плутоний, йод, цезий, стронций, америций, криптон, тритий, радиоуглерод), мониторинг радиоактивного загрязнения ведется обычно лишь по цезию-137 [8].

С учетом большого и постоянно растущего числа ксенобиотиков задача мониторинга всех поллютантов становится практически неразрешимой. В качестве объективного показателя суммарного загрязнения окружающей среды может рассматриваться уровень экологически зависимой заболеваемости населения [11]. Но поскольку эта заболеваемость (кроме некоторых респираторных заболеваний и аллергий) обычно имеет латентный период по отношению к влиянию ксенобиотика, важно иметь какие-то индикаторы комплексного влияния загрязнения окружающей среды до роста заболеваемости. Среди известных индикаторов – уровень хромосомных aberrаций и цитогенетических изменений (в том числе частота микроядер) эпителия ротовой полости – буккального эпителия [10].

48% населения Брянской области проживает на территориях с повышенным и высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха [3]. В Брянской области существуют территории с интенсивным радиационным загрязнением после Чернобыльской катастрофы (до 2997,0 кБк/м<sup>2</sup> по <sup>137</sup>Cs и 42,5 кБк/м<sup>2</sup> по <sup>90</sup>Sr) [1], а также территории сочетанных радиационно-химических воздействий [5].

Цель настоящей статьи – рассмотреть возможность применения микроядерного теста в буккальном эпителии при сравнении химического, радиационного и сочетанного радиационно-химического загрязнения среды.

**Материалы и методы исследования.** Оценка цитогенетического статуса в буккальном эпителии (БЭ) проводилась в 2010-2011 гг. у 242 детей 7–9 лет [11]. Обследовано 123 мальчика и 119 девочек, постоянно проживающих в Брянской области в пос. Клетня (59 чел.), г. Дятьково (69 чел.), пос. Творишино (42 чел.) и г. Новозыбкове (72 чел.), существенно различающихся по особенностям загрязнения территорий (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика химического и радиационного загрязнения на территориях Брянской области (средние данные за 2000–2009 гг. [1; 7])

Факторы экологического неблагополучия	Относительное экологическое благополучие (Клетня)	В основном химическое загрязнение (Дятьково)	В основном радиационное загрязнение (Творишино)	Радиационно-химическое загрязнение (Новозыбков)
Выбросы газообразных токсикантов, т/год	35,3	13367,2	33,5	988,0
В том числе:				
ЛОС	1,1	489,9	2,5	143,2
NO <sub>x</sub>	10,5	5358,9	14,2	423,5
SO <sub>2</sub>	11,0	2837,2	0,0	102,1
CO	12,7	4681,2	16,8	421,3
Средние токсические нагрузки, кг/чел./год*	1,7	171,1	2,7	26,2
В том числе:				
ЛОС	0,1	6,3	0,2	5,3
NO <sub>x</sub>	0,5	68,6	1,1	8,4
SO <sub>2</sub>	0,5	36,3	0,0	4,1
CO	0,6	59,9	1,4	8,4
Плотность загрязнения <sup>137</sup> Cs в 2001 г., кБк/м <sup>2</sup> Ки/км <sup>2</sup>	10,73 (0,29)	29,60 (0,80)	383,3 (10,36)	504,30 (13,63)
Плотность загрязнения <sup>90</sup> Sr в 2001 г., кБк/м <sup>2</sup> , Ки/км <sup>2</sup>	1,37 (0,0037)	1,48 (0,04)	9,25 (0,25)	17,39 (0,47)

\*Удельная величина валовых газообразных выбросов определена путем пересчета данных официальной паспортизации предприятий Брянской области [7] на число жителей данной административной территории.

Территория Новозыбкова находится на первом месте по величине радиационного и на втором – по величине химического загрязнения. Территория Дятьково характеризуется наиболее высоким (выше в 13-399 раз) уровнем химического загрязнения относительно других территорий. Территория Творишино характеризуется высоким уровнем радиационного загрязнения (лишь немного меньшим, чем в Новозыбкове).

По большинству показателей территория Клетни в десятки (по некоторым загрязнениям – в сотни) раз менее загрязненная, чем три другие. Исключение составляет диоксид серы, уровень которого ниже в Творишино. По сумме показателей химического и радиационного загрязнения Клетня принята за условно чистую (контрольную) территорию.

Забор буккального эпителия (БЭ) проводился деревянным стерильным шпателем. Анализировалось 500–1500 клеток БЭ от каждого ребенка. Полученные частоты пересчитывались на 1000 клеток (окончательный результат выражен в промилле, ‰). Всего про-

анализировано 237 000 клеток. Анализ проводился с помощью светового микроскопа Nikon при увеличении в 400 раз.

Высушенный на воздухе мазок на предметном стекле фиксировался – окрашивался по Лейшману (смесь азура-1, метиленового синего и желтого водорастворимого эозина) в течение 3–4 мин. Фиксатор сливали, мазок промывали проточной водопроводной водой при pH 6,5–7,0 (вода другой реакции приводит к плохой окраске препарата).

В исследование были включены дети, постоянно проживающие на данной территории и без противопоказаний, которые могли повлиять на частоту цитогенетических нарушений (без вирусных инфекций и простудных заболеваний, кариеса, стоматита и других воспалительных процессов в ротовой полости).

Учитывались следующие показатели (рисунок): цитогенетические нарушения – клетки с микроядрами (КМЯ) и протрузии разных форм (ПРФ); показатели пролиферации – двухъядерные клетки (ДК), клетки с более чем двумя ядрами (КЯ>2) и клетки с двойным ядром (ДЯ); показатели деструкции ядра – клетки с кариопикнозом (КП), кариорексисом (КР) и кариолизисом (КЛ).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием средств пакета Microsoft Excel. В качестве среднего значения использовано выборочное среднее. Для проверки статистической значимости отклонений использован t-критерий Стьюдента.

**Результаты исследования.** В табл. 2 приведены выявленные частота цитогенетических нарушений, показатели пролиферации и деструкции ядра в БЭ мальчиков и девочек 7-9 лет, проживающих в разных экологических условиях.

Территория с сочетанным радиационно-химическим загрязнением (Новозыбков) отличается от контрольной по четырем показателям: КП – различия с контрольной территорией в 6,5 раза ( $p<0,001$ ), КР – в 4,9 раза ( $p<0,05$ ), КЛ – в 4,0 раза ( $p<0,001$ ) и ДК – в 1,9 раза ( $p<0,001$ ). Эта территория особенно выделяется среди других по высокой частоте клеток с деструкцией ядра – КП, КР и КЛ. Показатели КП и КЛ здесь достоверно ( $p<0,001$ ) превышают аналогичные показатели не только контрольной территории (в 5,3 раза), но и территорий радиационного (в 3,0 раза) и химического (в 2,4 раза) загрязнения окружающей среды.

Территория с наибольшим уровнем химического загрязнения (Дятьково) отличается от контрольной по четырем показателям: КМЯ – в 73,5 раза ( $p<0,05$ ), ДЯ – в 9 раз ( $p<0,001$ ), ПРФ – в 7,8 раза ( $p<0,01$ ) и КП – в 3,2 раза ( $p<0,001$ ). На этой территории число КМЯ в 8,2 раза больше, чем в Творишино, и в 36,7 раза больше, чем в Новозыбкове.

Территория в основном с радиационным загрязнением (Творишино) статистически достоверно отличается от контрольной по трем показателям: ДЯ – в 19 раз ( $p<0,05$ ), ПРФ – в 7,3 раза ( $p<0,05$ ) и КП – в 2,3 раза ( $p<0,01$ ). На этой территории заметно больше клеток с ДЯ.

Наибольшая частота КМЯ обнаружена на территории химического загрязнения; клеток с ДЯ – на территории радиационного загрязнения; ДК, клеток с КП, КР и КЛ – на территории сочетанного радиационно-химического загрязнения.

**Обсуждение результатов.** В условиях глобального загрязнения химическими и радиоактивными ксенобиотиками любые сравнения территорий будут сравнениями более загрязненных территорий не с чистыми, а лишь с менее загрязненными. То, что изученные выборки относятся к территориям, кратно различающимся по степени химической и радиационной нагрузки, позволяет предполагать, что обнаруженные различия цитогенетических характеристик отражают влияние специфических (химических и радиационных) факторов окружающей среды.

Полученные результаты по выборкам из Брянской области не противоречат опубликованным данным по дозозависимым цитогенетическим нарушениям БЭ детей с преобладанием КМЯ, ПРФ, ДК, межъядерных мостов, КП, КР, КЛ и конденсированного хроматина в ядре в условиях химического загрязнения окружающей среды [2; 4].

Обращает на себя внимание различие в частоте КМЯ у детей на территории Брянской области. Поскольку обычно средний уровень КМЯ составляет 1–3‰ [10], максимальный из обнаруженных в Брянской области средний уровень КМЯ (Дятьково,  $1,47 \pm 0,67\%$ ), казалось бы, не может рассматриваться как повышенный. Но этот уровень статистически достоверно выше средних частот МЯ не только на контрольной территории (в 74 раза), но и на территории радиационно-химического загрязнения (в 37 раз), и на территории радиационного загрязнения (в 8 раз). Этот и другие эффекты сочетанного влияния физического (радиационного) и химического загрязнения окружающей среды в реальной экологической ситуации, несомненно, требуют специальных дополнительных исследований. В приведенных данных по Брянской области наибольшее число отличий от контрольной территории обнаружено при сочетанном радиационно-химическом загрязнении. Это может указывать на аддитивный характер влияния радиационного и химического загрязнения на частоту цитогенетических нарушений. В то же время высокий уровень показателей деструкции ядра (КП, КР, КЛ) в регионе с сочетанным радиационно-химическим воздействием позволяет предполагать наличие синергизма, а низкий уровень цитогенетических нарушений на этой территории по показателям КМЯ и ПРФ – проявление эффекта ингибирования.

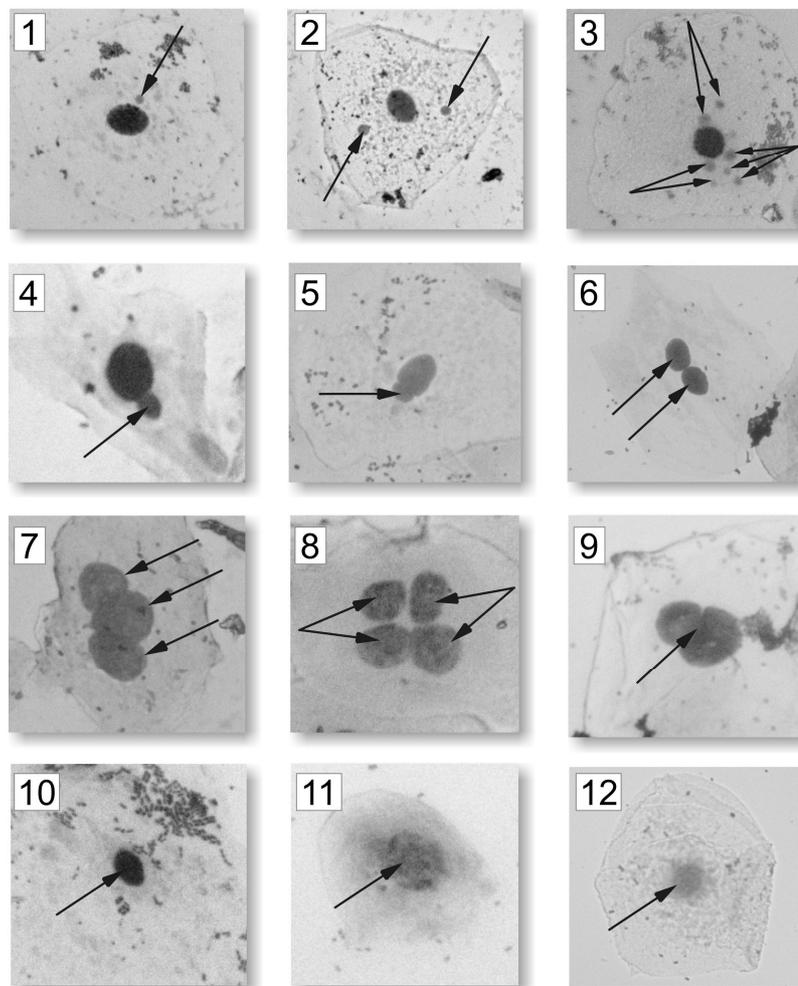


Рис. Примеры цитогенетических нарушений в буккальном эпителии (окраска по Лейшману,  $\times 400$ ) [6]: 1 – клетка с микроядром; 2 – клетка с двумя микроядрами; 3 – клетка с множеством микроядер; 4, 5 – клетка с протрузией ядра; 6 – двухъядерная клетка; 7 – клетка с тремя ядрами; 8 – клетка с четырьмя ядрами; 9 – клетка с двойным ядром; 10 – клетка с кариопикнозом; 11 – клетка с кариорексисом; 12 – клетка с кариолизисом

Таблица 2

Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7-9 лет, проживающих в разных экологических условиях в Брянской области ( $x_{cp} \pm m$  на 1000 клеток, %) [6]

Цитогенетические показатели	Относительное экологическое благополучие (Клетня), n=59	В основном химическое загрязнение (Дятьково), n=69	В основном радиационное загрязнение (Творишино) n=42	Радиационно-химическое загрязнение (Новозыбков), n=72
Цитогенетические нарушения				
КМЯ	0,02±0,02	1,47±0,67***	0,18±0,08	0,04±0,03
ПРФ	0,04±0,03	0,31±0,09**	0,29±0,12***	0,13±0,06
Показатели пролиферации				
ДК	6,84±0,79	9,60±1,20	9,37±1,26	12,84±1,37*
КЯ>2	0,15±0,06	0,16±0,06	0,08±0,04	0,23±0,09
ДЯ	0,04±0,04	0,36±0,09*	0,76±0,29***	0,12±0,07
Показатели деструкции ядра				
КП	1,79±0,37	5,73±1,05*	4,19±0,67**	11,66±2,21*
КР	0,15±0,08	0,27±0,14	0,12±0,06	0,74±0,31***
КЛ	7,08±1,98	10,51±1,39	9,19±1,54	28,58±3,21*

Примечание. Различия с контролем статистически достоверны: \*p<0,001; \*\*p<0,01; \*\*\* p<0,05.

При дальнейшем накоплении данных по цитогенетическим изменениям БЭ у разных групп в разных условиях окружающей среды, особенно в динамике, может быть реализована высказанная более 20 лет назад идея использования БЭ как естественного биологического дозиметра качества окружающей природной среды [12]. Такой дозиметр позволил бы приблизить результаты широко проводимого экологического мониторинга по ограниченному числу показателей к оценке реального влияния всего комплекса загрязнений (ни сейчас, ни в будущем учесть влияние всех без исключения загрязнителей порознь невозможно). «Калибровка» такого дозиметра станет возможной при выяснении динамики изменения цитогенетических показателей в одной и той же группе при изменении интенсивности воздействия ксенобиотиков.

МЯ-тест по чувствительности к изменениям в состоянии окружающей среды не уступает тесту с использованием хромосомных aberrаций, но является при этом менее трудоемким [5; 10]. Это преимущество (простота сбора и анализа материала, неинвазивность) может оказаться крайне существенным при использовании МЯ-теста буккального эпителия как биологического дозиметра суммарного уровня загрязнения среды обитания. Однако для этого необходима разработка шкалы измерений такого дозиметра – качественная и количественная градуировка изменений БЭ под влиянием факторов окружающей среды. Это станет возможным при накоплении данных по количественным и качественным цитогенетическим нарушениям БЭ под влиянием разной величины и мощности химических и физических воздействий.

Выводы:

1. Полученные данные показывают, что уровень цитогенетических нарушений буккального эпителия связан с уровнем не только химического, но и радиационного загрязнения окружающей среды.

2. Наибольшее число отличий цитогенетических характеристик буккального эпителия обнаружено при сочетанном радиационно-химическом загрязнении, что, возможно, указывает на аддитивный характер влияния радиационного и химического факторов на частоту цитогенетических нарушений. В то же время высокий уровень показателей деструкции ядра на этой территории позволяет предполагать наличие синергизма, а низкий

уровень цитогенетических нарушений по числу клеток с микроядрами и протрузиями разных форм – проявление эффекта ингибирования совместным воздействием физического и химического загрязнений.

3. Полученные данные указывают на необходимость совершенствования гигиенических нормативов качества среды обитания людей, подвергшихся сочетанному влиянию химического и радиационного факторов окружающей среды.

4. При дальнейшем накоплении материала по уровню цитогенетических нарушений буккального эпителия при разной величине и мощности химических и физических (радиационных) воздействий станет возможной разработка методики биологической дозиметрии уровня загрязнения окружающей среды.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Средние накопленные за 1986-2001 гг. эффективные дозы облучения жителей населенных пунктов Российской Федерации, находящихся в границах зон радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС: справочник / под ред. Г.Я. Брукк. - М.: Мин-во здравоохранения РФ, 2002. - 206 с.
2. Бяхова, М.М. Кариологические и иммунологические показатели у детей в условиях различного загрязнения атмосферного воздуха / М.М. Бяхова, Л.П. Сычева, В.С. Журков [и др.] // Гигиена и санитария. - 2010. - № 3. - С. 9-12.
3. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2012 году». - М.: М-во природ. ресурсов и экологии РФ, 2013. - 483 с.
4. Джембетова, П.М. Оценка влияния загрязнения почв нефтепродуктами на цитогенетический статус и показатели апоптоза в клетках буккального эпителия у детей / П.М. Джембетова, Л.Г. Молочаева, А.Б. Махтиева [и др.] // Экологическая генетика. - 2009. - № 4. - С. 34-40.
5. Корсаков, А.В. Комплексная эколого-гигиеническая оценка изменений состава среды как фактора риска для здоровья населения: монография / А.В. Корсаков, В.П. Михалев, В.П. Трошин. - Palmarium Academic Publishing, 2012. - 404 с.
6. Корсаков, А.В. Влияние комплекса техногенных факторов среды обитания на частоту цитогенетических нарушений в буккальном эпителии детей младшего школьного возраста / А.В. Корсаков, В.П. Трошин, В.П. Михалев [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер. XXIII, Антропология. - 2012. - № 1. - С. 110-118.
7. Города и районы Брянской области (2000-2009 гг.): стат.сб. / под ред. Н.А. Муратовой. - Брянск: Брянскстат, 2010. - 845 с.
8. Онищенко, Г.Г. Радиологические и медицинские последствия аварии на Чернобыльской АЭС в Российской Федерации / Г.Г. Онищенко // Гигиена и санитария. - 2007. - № 4. - С. 6-13.
9. Рахманин, Ю.А. Современные направления методологии оценки риска / Ю.А. Рахманин, С.М. Новиков, Т.А. Шашина // Гигиена и санитария. - 2007. - № 3. - С. 3-9.
10. Сычева, Л.П. Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека / Л.П. Сычева // Гигиена и санитария. - 2012. - № 6. - С. 68 - 72.
11. Яблоков, А.В. Химическое и радиационное загрязнение среды как основные факторы дополнительной глобальной смертности в XX веке / А.В. Яблоков // Вопр. биол. медицины и фармацевт. химии. - 2004. - № 4. - С. 9-11.
12. Stich, H.F. Towards an automated micronucleus assay as a internal dosimeter for carcinogen-exposed Human population groups / H.F. Stich, A.V. Acton, B. Palcic // Recent Results in Cancer Res. - 1990. - V. 120. - P. 94-108.

Материал поступил в редколлегию 27.03.14.