

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС РАБОТНИКОВ ЦЕМЕНТНОГО ЗАВОДА

CYTOGENETIC STATUS OF CEMENT PLANT WORKERS

**L. Saparbaeva
M. Gumbetov
P. Gumbatova**

Summary. The analysis of karyological parameters in the cells of the buccal epithelium of workers of a cement plant is carried out. An increase in the proportion of cells with cytogenetic disorders and indicators of early nuclear destruction was revealed, indicating a mutagenic effect of cement dust and an increase in the rate of renewal of epithelial cells.

Keywords: buccal epithelium, cement industry, karyological indicators.

Сапарбаева Лариса Маасовна

Комплексный научно-исследовательский институт
им. Х. И. Ибрагимова Российской академии наук,
г. Грозный

larasaparbayeva93@bk.ru

Джамбетов Муса Ибрагимович

Комплексный научно-исследовательский институт
им. Х. И. Ибрагимова Российской академии наук,
г. Грозный

Джамбетова Петимат Махмудовна

Чеченский государственный университет, г. Грозный
petimat-lg@rambler.ru

Аннотация. Проведен анализ кариологических показателей в клетках буккального эпителия работников цементного завода. Выявлено повышение доли клеток с цитогенетическими нарушениями и показателями ранней деструкции ядра, свидетельствующими о мутагенном эффекте влияния цементной пыли и увеличении скорости обновления эпителиоцитов.

Ключевые слова: буккальный эпителий, цементная промышленность, кариологические показатели.

Введение

Микроядерный тест буккальных эпителиоцитов, предложенный Sarto et al. (1987) в 80-х гг. широко используется как высокоинформативный метод исследования влияния на организм факторов внешней и внутренней среды, обладающих цитотоксическим и/или мутагенным эффектом, приводящим к изменениям структуры ядра, численным и структурным aberrациям хромосом, и, соответственно, к появлению кариологических показателей: микроядер, протрузий, кариолизиса, кариопикноза, вакуолизации и других, отражающих состояние разных органов и систем организма. Изменения частоты нарушений структуры ядра и хроматина в клетках буккального эпителия, по мнению исследователей, является сигналом патологических состояний организма, косвенно указывая на нарушение работы иммунной системы [1; 9].

В современном мире масса людей подвергается воздействию различных неблагоприятных факторов среды, в том числе, факторов, вызывающих риск развития профессиональных заболеваний. Наиболее часто такие риски возникают при воздействии опасных и вредных производственных факторов.

Цементное производство является на сегодняшний день одним из ведущих отраслей строительной про-

мышленности. Работники цементных заводов подвержены ряду вредных факторов, таких как тепловая радиация, резкие колебания температуры, шум и запыленность. Наибольшую значимость среди них имеет цементная пыль, состоящая из цементного клинкера, добавок, готового цемента и угля.

Наиболее часто у людей, занятых в производстве цемента, наблюдают повышение общей смертности, онкологические заболевания и заболевания легких. Однако, до сих пор нет точных данных по степени риска развития патологий.

В связи с вышесказанным, целью данного исследования является изучение частоты кариологических показателей буккального эпителия лиц, работающих на цементном заводе и определение степени риска развития патологий, связанных с факторами производственной среды.

Материал и методы исследования

Биоматериалом для кариологического исследования послужили клетки буккального эпителия ротовой полости 41 работника Чири-Юртовского цементного завода Чеченской Республики с учетом стажа работы. В контрольную группу вошли 30 человек, не связанных с производством цемента и его использованием.

Таблица 1. Частота микроядер и протрузий в изучаемых группах (в %о)

№	Цитогенетические показатели	Частота клеток с нарушениями структуры ядра				
		1–3 лет	4–8 лет	10 и > лет	Всего	контрольная группа
1	Микроядра	1,75 ± 0,12	1,64±0,18	2,86 ±1,06	2,08 ± 0,46	0,41±0,08
2	Протрузия	1,00 ± 0,07	1,5± 0,22	1,71 ± 0,12	2,24 ± 0,12	0,61±0,17

Приготовление препаратов

Готовили по 2 мазка клеток буккальных эпителиоцитов на предметных стеклах. После высушивания при комнатной температуре проводили фиксацию (3 части этилового спирта: 1 часть ледяной уксусной кислоты). Прокрашивание хроматина проводили с использованием 2,5%-ного раствора ацетоорсеина (Merck) в течение 1 часа при 37 °С. Цитоплазму окрашивали 1%-м раствором Light green (ICN) в течение 1 минуты при комнатной температуре. На каждого участника исследования проанализировано не 1000 эпителиоцитов.

Кариологические показатели идентифицировали согласно методическим рекомендациям [6]. Исследование проводилось с использованием микроскопа Olympus (Япония) (увеличение 10x40; 10x100).

Исследуемые работники были разделены на группы с учетом стажа работы.

Результаты и обсуждение

Согласно литературным данным, микроядра образуются в базальном слое многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой оболочки внутренней поверхности щеки, появляются во время нарушения протекания митоза и являются фрагментами ацентрических хромосом, потерянных при митозе. Микроядра, как и протрузии, могут быть последствием протекания апоптоза клетки, при котором должна происходить элиминация «лишнего» хромосомного материала, который мог образоваться при цитогенетическом или мутагенном влиянии эндо — или экзофакторов [11].

Протрузии — это структуры, которые образовались по тому же механизму, что и микроядра, то есть являются результатом мутагенного воздействия на хроматин и элиминации его при апоптозе. Однако эти структуры остаются связанными с основным ядром, тонкой перемычкой или мембранными связками [11].

Результаты исследования частоты микроядер и протрузий в изучаемых группах представлены в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что частота цитогенетических нарушений (микроядра и протрузии) в экспонированной группе без учета стажа ($2,08 \pm 0,46$ и $2,24 \pm 0,12$, соответственно) достоверно значимо превышает частоту аналогичных показателей у лиц контроля ($0,41 \pm 0,08$ и $0,61 \pm 0,17$, соответственно) ($p > 0,001$).

Результаты исследования в трех группах работников цементного завода, разделенных с учетом стажа работы, также показали увеличение доли клеток с микроядрами и протрузиями с повышением стажа работы. Так, при стаже работе до 8 лет доля клеток с микроядрами превышает более чем в 4 раза, а при стаже работы более 10 лет частота клеток с микроядрами превышает почти в 7 раз по сравнению с частотой данного показателя в группе контроля.

Таким образом, можно констатировать, что цементная пыль обладает цитогенетическим и мутагенным эффектами, что подтверждается достоверным увеличением доли клеток с цитогенетическими нарушениями структуры ядра.

При генетических нарушениях структуры ядра клетка включает механизмы апоптоза для элиминации таких повреждений, в связи с чем он является одним из индикаторов генотоксичности. Результатом апоптоза является вакуолизация ядра, выраженная в виде неокрашенных полостей, которые появляются как результат лизиса хроматина и являются признаками начинающейся деструкции ядра [11]. Апоптоз может проявиться и как кариорексис, кариопикноз и кариолизис [9].

Другой показатель деструкции ядра — кариопикноз — это изменение ядра, при котором происходит уменьшение его размеров более чем в 2 раза, при окрашивании отмечается плотное и гомогенное содержимое ядра. Кариолизис — ядро с разрушающейся кариолеммой имеющее гомогенную светлую окраску (ранний кариолизис) или полное отсутствие окраски ядра, когда ядро имеет вид светлого пятна на фоне окрашенной цитоплазмы (поздний кариолизис) [7]. Мейер и соавт. [5] характеризуют кариолизис и кариопикноз как показатели завершения деструкции ядра. Как известно, данные показатели — вакуолизация, кариолизис и кариопикноз,

Таблица 2. Результаты исследования клеток буккального эпителия с деструкцией ядра у работников цементного завода (в %о)

№	Показатели деструкции ядра	Частота кариологических показателей				
		1–3 лет	4–8 лет	10 и >лет	Всего	контроль
1	Кариорексис	3,00 ± 1,41	1,64 ± 0,36	0,14±0,14	1,59 ± 0,59	4,55 ± 1,23
2	Кариопикноз	67,75 ± 8,45	10,54 ± 1,16	6,00 ±1,54	28,09 ± 3,73	8,51± 0,16
3	Кариолизис	75,25 ± 11,1	29,39 ± 4,43	15,43 ±3,20	40,02 ± 6,21	17,27 ± 3,06
4	Вакуолизация	66,75 ± 12,6	48,00 ± 4,86	48,14 ±12,6	54,29 ± 8,6	12,09 ± 2,66

Таблица 3. Результаты исследования частоты буккальных эпителиоцитов в пролиферации в изучаемых группах

№	Показатель	Частота клеток с нарушениями структуры ядра				
		1–3 лет	4–8 лет	10 и > лет	Всего	контрольная группа
1	Двухядерные клетки	0,86 ± 0,29	0,43±0,14	0,48 ±0,20	0,47±0,21	0,70 ± 0,13
2	Насечки	6,25 ± 1,84	1,29±0,25	1,00 ±0,44	2,85±0,78	2,63±0,45

отражают такие клеточные явления как некроз и апоптоз клеток [11].

Результаты изучения кариологических показателей деструкции ядра в изученных группах представлены в таблице 2.

Результаты проведенного анализа (табл. 2) показали, что у работников цементного завода показатели деструкции ядра (кариопикноз, кариолизис и вакуолизация) в клетках буккального эпителия значительно превышает аналогичные показатели контрольной группы.

Установлено, что этот показатель выше у работников со стажем работы от 1 до 3 лет, что совпадает с литературными данными [8]. Обнаружено, что у работников с небольшим стажем частота встречаемости кариопикноза и кариолизиса значительно выше, чем данные показатели у работников с большим стажем. Как мы видим, в клетках буккальных эпителиоцитов, отмечается интенсификация процессов деструкции клеток для снижения доли клеток с цитогенетическими нарушениями у работников с минимальным стажем. Однако, частота показателей деструкции ядра, такие как кариорексис, кариопикноз и кариолизис у работников с десятилетним стажем ниже по сравнению с частой данных показателей в группе контроля, что на наш взгляд, является результатом адаптационных механизмов.

В ходе нарушения митотического процесса при повреждении веретена деления образуются пролиферативные клетки, которые относят к группе цитогенетических нарушений структуры клетки. Они представлены двухядерными клетками и клетками с насечками как ре-

зультат нарушения не только цитотомии, но и кариотомии [4].

Результаты исследования частоты клеток буккального эпителия в пролиферации в изучаемых группах индивидов представлены в таблице 3.

Как видно, в среднем частота двухядерных клеток и клеток с насечками во всех экспонированных группах статистически незначима по сравнению с группой контроля. При этом, у работников со стажем работы более 4 лет, данные показатели ниже по сравнению с группой контроля. Однако, частота ядер с насечками значительно в 2,4 выше у начинающих работников, стаж работы которых не превышает 3 года, по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, результаты проведенного исследования влияния факторов производственной среды на клетки буккального эпителия работников цементного завода показали нарушение процессов пролиферации усиливаются в первые годы работы на цементном заводе и снижаются после четырех лет, что объясняется адаптационными механизмами организма к производственным условиям завода и наличию цементной пыли.

Исходя из вышесказанного, мы можем говорить, что работники цемзавода подвергаются действию цитотоксических и цитогенетических факторов в условиях влияния цементной пыли, поскольку частота кариолизиса, кариопикноза и кариорексиса, а также и насечек в экспонированных группах превышает показатель по сравнению с контрольной группой. При генетических нарушениях структуры ядра, клетка включает механизмы

апоптоза для элиминации таких повреждений, в связи с чем он является одним из индикаторов генотоксичности.

Заключение

Проведенное исследование генотоксического эффекта цементной пыли с использованием микроядерного теста показал, что организм человека имеет сложные механизмы адаптации к условиям среды, в данном случае, производственным условиям цементного завода. Кариологический анализ клеток буккального эпителия у работников цементного завода показал повышение цитогенетических нарушений структуры ядра в первые годы работы (до 3 лет). Повышение цитогенетических нарушений ядра (микроядра, протрузии) приводит к увеличению процессов деструкции ядра, что мы можем

отметить по результатам проведенного исследования. С увеличением стажа работы в условиях производственной среды цементного завода приводит как к снижению цитогенетических показателей, так и показателей деструкции ядра, что является следствием адаптационных процессов в организме.

Не вызывает сомнения, что наблюдаемые изменения в клетках буккальных эпителиоцитов работников цементного завода вызваны цитотоксичными и цитогенетическими факторами производственной среды. Таким фактором является цементная пыль, представленная сложными химическими соединениями, в результате воздействия которых наблюдается усиленная деструкция клеток буккального эпителия, которая, в свою очередь, является главным механизмом элиминации поврежденных клеток [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Калаев В.Н., Карпова С. С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. — Воронеж, 2004. — 80 с.
2. Калаев В. Н. Микроядерный тест в буккальном эпителии больных шизофренией на разных стадиях лечения заболевания /В.Н. Калаев, О. Г. Никитина, Т. Ю. Никитина, С. С. Карпова // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. — 2010. — Т. 9, № 4. — С. 817–821
3. Маймулов В.Г., Ромашов П. Г., Чернякина Т. С. и др. Оценка частоты микроядер в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта у дошкольников в районах с различной интенсивностью загрязнения окружающей среды // Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. — М., 2010. — С. 106–107
4. Маймулов В.Г., Якубова И. Ш., Суворова А. В. и др. Оценка частоты микроядер в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта у школьников в районах с различной интенсивностью загрязнения окружающей среды // Материалы объединенного Пленума Научных советов Минздравсоцразвития РФ и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих, М., 2010. — С. 108–109.
5. Мейер А.В., Лунина А. А., Ларионов А. В. и др. Изучение взаимосвязи между частотой микроядер и ядерных протрузий в клетках буккального эпителия человека и полиморфизм генов репарации ДНК на фоне воздействия радона: Структура и функции клеточного ядра: Тез. докл. и сообщ. 16-й Всерос. симп. // Цитология. — 2010. — 52, № 8. — С. 673–674.
6. Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизи стых оболочек полости носа и рта у человека: Метод. рекомендации. Утверждены Председателем ИС РАМН и МЗ и СР России по экологии человека и гигиене окружающей среды. — М., 2005.
7. Попова И.Е., Калаев В. Н., Нестерова Л. И. и др. Микроядерный анализ в буккальных эпителиоцитах спортсменов, занимающихся спортивными единоборствами, в свете данных об их психофизиологическом состоянии // Физическая культура, спорт, здоровье в жизни молодежи: Сб. науч. статей Всерос. науч.-практ. конф. — Воронеж, 2009. — С. 113–118.
8. Сычева Л.П., Журков В. С., Ревазова Ю. А. Цитогенетический статус эксфолиативных клеток человека как биомаркер генотоксического, цитотоксического и канцерогенного действия факторов окружающей среды // Съезд генетиков и селекционеров, посвященный 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина: Тез. докл. — М., 2009. — 2. — С. 352.
9. Юрченко В. В. Цитогенетические нарушения в эпителии щеки человека при экспозиции генотоксикантами /В.В. Юрченко //Токсикологический вестник, 2005. — № 6. — С. 14–21
10. Cardozo N. Causes of spatially variable tectonic subsidence in the miocene bermejo foreland basin, Argentina /Cardozo N., Jordan T. //Basin research. 2001. — Т. № 3. — Р. 335–357
11. Jurchenko V. V. Mikrojadernyj test na gepatocitah. Poliorgannyj mikrojadernyj test v jekologigigienicheskikh issledovaniyah. /V. V. Jurchenko //M.: Genius, 2007. — Р. 43–87.

© Сапарбаева Лариса Маасовна (larasaparbayeva93@bk.ru), Джамбетов Муса Ибрагимович,

Джамбетова Петимат Махмудовна (petimat-ig@rambler.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»