

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У РАБОТНИКОВ АЛЮМИНИЕВОГО ЗАВОДА, БОЛЬНЫХ СКЕЛЕТНЫМ ФЛЮОРОЗОМ

THE INCREASE OF THE LEVEL OF CHROMOSOME ABERRATIONS IN WORKERS OF THE ALUMINUM PLANT OF PATIENTS WITH SKELETAL FLUOROSIS

**E.Serdyukova
V.Volobaev
A.Larionov**

Summary. Purpose. Skeletal fluorosis, a disease caused by chronic fluoride exposure, is likely to affect the level of genotoxic effects. The aim of the study was to assess the frequency of clastogenic effects in workers of aluminum production of patients with fluorosis.

Methods. The material for the study was the venous blood of workers of Novokuznetsk aluminum plant suffering from fluorosis and the control group without pathology. The frequency of clastogenic effects in blood leukocytes was estimated using the chromosomal aberration (CA) method.

Results. The marked increase in the frequency of NA, aberrations of chromosomal type, pairs of fragments and the atypical monocentric in the group with fluorosis.

Summary. The observed increase in the level of chromosomal type aberrations in workers with skeletal fluorosis is probably associated with oxidative stress caused by disturbances in the activity of enzymatic systems.

Keywords: skeletal fluorosis, chromosomal aberrations, oxidative stress.

Сердюкова Екатерина Сергеевна

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

katya.serdyukova.1997@mail.ru

Волобаев Валентин Павлович

М.н.с., ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

volobaev.vp@gmail.com

Ларионов Алексей Викторович

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

alekseylarionov09@gmail.com

Аннотация. Цель. Скелетный флюороз — заболевание, вызываемое хроническим воздействием фторидов, вероятно способно влиять на уровень генотоксических эффектов. Целью исследования была оценка частоты кластогенных эффектов у работников алюминиевого производства больных флюорозом.

Методы. Материалом для исследования послужила венозная кровь работников Новокузнецкого алюминиевого завода страдающих флюорозом и контрольной группы без патологии. Частота кластогенных эффектов в лейкоцитах крови оценивалась с помощью метода учета хромосомных aberrаций (ХА).

Результаты. Отмечено увеличение частоты ХА, aberrаций хромосомного типа, парных фрагментов и атипичных моноцентриков в группе с флюорозом.

Выводы. Наблюдаемое увеличение уровня aberrаций хромосомного типа у работников со скелетным флюорозом, вероятно связано с окислительным стрессом, вызванным нарушениями деятельности ферментативных систем.

Ключевые слова: скелетный флюороз, хромосомные aberrации, окислительный стресс.

Введение

Избыточное содержание фторидов в среде обитания человека и профессиональное экспонирование фтором является актуальной и недооцененной проблемой. При хроническом поступлении фторидов в организм в костной ткани развивается патологический процесс — приводящий к заболеванию флюороз. При малых дозах патология ограничивается поражением зубов, а при воздействии высоких концентраций фтора происходит повреждение костной ткани, сопровождающееся некоторыми системными изменениями. Алюминиевые

заводы характеризуются наличием в производственной среде высоких дозировок фтористых соединений, с которыми непосредственно контактируют работники заводов, жители прилегающих территорий и потребители пищевых продуктов произрастающих в прилегающих к производству зонах. Существуют данные о генотоксических, тератогенных и канцерогенных способностях фторидов [3, с 236–251]. Скелетный флюороз, вероятно так же способен влиять на уровень генотоксических эффектов. Новокузнецкий алюминиевый завод является одним из крупнейших алюминиевых предприятий Российской Федерации, причем располагающимся в черте

крупного города. Ввиду появления новых данных о дополнительной опасности фтора, проведение оценки генотоксических и цитотоксических эффектов у работников завода больных профессиональной патологией получает особую актуальность.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила периферическая венозная кровь 29 работников Новокузнецкого алюминиевого завода, с диагностированным заболеванием «Костный флюороз» и 15 работников алюминиевого завода без патологии. Венозная кровь, отбиралась в вакуумные пробирки с гепарином. Цитогенетические исследования были выполнены с помощью стандартной методики учета ХА [1, с 333–338] с модификациями. Культивировали лимфоциты периферической крови, полученной из локтевой вены шахтеров. В культуральный флакон помещали 0.5 мл крови, 0.1 мл фитогемагглютина («ПанЭко», Россия), 6 мл среды RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), 1.5 мл эмбриональной телячьей сыворотки. Длительность культивирования составляла 48 часов. Затем в культуры добавлялся колхицин до конечной концентрации 0.5 мкг/мл, и флаконы помещались в термостат еще на 2 часа. По окончании цикла культивирования препараты центрифугировали 10 минут на 1000 оборотах, надосадок убирали, осадок ресуспендировали и помещали в гипотонический раствор 0.55M KCl на 10–15 минут (37 °C). Фиксацию материала проводили в трех сменах охлажденного свежеприготовленного фиксатора Карнуа (метанол и уксусная кислота в соотношении 3:1). Клеточную суспензию раскапывали на чистые, охлажденные, смоченные водой предметные стекла. Препараты шифровали и окрашивали 2% раствором красителя Гимза.

Учет ХА проводили под световым микроскопом при увеличении 1000 раз в присутствии масляной иммерсии без кариотипирования. Отбор метафазных пластинок, включаемых в анализ, и критерии для регистрации цитогенетических нарушений соответствовали общепринятым рекомендациям [1, с 333–338].

Сравнения показателей ХА у групп больных антракосиликозом и здоровых осуществляли с помощью рангового U-теста Манна-Уитни.

Результаты

У страдающих патологией наблюдался повышенный уровень суммарной частоты ХА (mean [95% CI]) — 4,77[4,28–5,26] против 3,15[2,50–3,81], $p < 0,01$. Повышение уровня аберраций произошло за счет аберраций хромосомного типа 2,25[1,64–2,86] против 1,56[0,99–2,13], $p < 0,05$ среди которых значимо увеличена численность парных фрагментов 1,17[0,85–1,49] против

0,79[0,49–1,19], $p < 0,05$ и атипичных моноцентриков 0,98[0,73–1,25] против 0,43[0,11–0,23], $p < 0,01$.

Обсуждение

Значимое увеличение уровня некоторых аберраций хромосомного типа (атипичные моноцентрики и парные фрагменты), в отсутствие превышения аберраций хроматидного типа, у рабочих страдающих скелетным флюорозом по сравнению со здоровыми в первую очередь интересна тем, что подобная картина характерна для радиационного поражения и вызванного им острого оксидативного стресса [6, с 7589–7605]. В то же время по мере накопления данных, касающихся биологических эффектов действия ионизирующей радиации в малых дозах, становится все более очевидным, что метаболический стресс, а не повреждение ДНК вследствие ионизационных событий, может быть основным фактором, определяющим судьбу клеток после облучения в малых дозах. Ключевой процесс, влияющий на гомеостаз облученных клеток, — радиационно-индуцированная генерация активных форм кислорода (АФК). АФК способны повреждать ДНК с образованием двуниевых разрывов, повреждением теломер и образованием «липких концов», наличие которых в свою очередь приводит к появлению колец и дицентрических хромосом. Значимость оксидативного стресса для величины уровня аберраций хромосомного типа неоднократно подтверждалась опосредовано — искусственно увеличивая или снижая активность и концентрацию ферментов антиоксидантной системы, что в свою очередь вызывало снижение или увеличение уровня дицентрических хромосом, колец и транслокаций [2, с. 226–231; 4, с.277–285]. Патологическая картина при скелетном флюорозе характеризуется разнообразными нарушениями обмена веществ. Декальцинирующий эффект фторидов, обладающих способностью осаждать кальций из протоплазмы в виде нерастворимого в тканях и жидкостях фторида кальция приводит к падению уровня кальция что усиливает проницаемость сосудистой стенки и нарушает деятельность ферментативных систем, что в свою очередь может приводить к окислительному стрессу. Источником АФК являются дыхательная цепь митохондрий и система НАДФН-оксидазы, хотя роль последней требует более прямого подтверждения. АФК начинают воздействовать на мембраны окружающих клеток вызывая в них окислительный стресс, что в свою очередь может индуцировать появление аберраций хромосомного типа [5, с562–568].

Конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Кемеровской области (№ 18–44–420012 p_a, соглашение с АКО № 8 от 28 июня 2018 г.), а так же стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hungerford, P.A. (1965) Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. *Stain Technol.*, 40, 333–338.
2. Metwally, F.M., Zaid, M.M., El-Mezayen, H.A. (2014) Chromosomal aberrations and Oxidative stress induced by Occupational exposure to organic solvents: Role of antioxidant supplementation. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 29(1), 226–231
3. Perumal E, Paul V, Govindarajan V, Panneerselvam L. A brief review on experimental fluorosis. *Toxicol Lett.* 2013; 223(2): 236–51.
4. Samper, E., Nicholls, D.G. and Melov, S. (2003) Mitochondrial oxidative stress causes chromosomal instability of mouse embryonic fibroblasts. *Aging Cell*, 2, 277–285.
5. Sciandrello, G., Mauro, M., Catanzaro, I., Saverini, M., Caradonna, F., Barbata, G. (2011) Long-lasting genomic instability following arsenite exposure in mammalian cells: the role of reactive oxygen species. *Environ Mol Mutagen.*, 52(7), 562–568.
6. Schipler, A., Iliakis, G. (2013). DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucleic Acids Research*, 41(16), 7589–7605.

© Сердюкова Екатерина Сергеевна (katya.serdyukova.1997@mail.ru), Волобаев Валентин Павлович (volobaev.vp@gmail.com),

Ларионов Алексей Викторович (alekseylarionov09@gmail.com).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»

