

ОЦЕНКА ЧАСТОТ МИКРОЯДЕР У ДЕТЕЙ ИЗ ОБЛАСТЕЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ

М. В. Соболев, Е. С. Афанасьева, В. Ф. Безруков

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев

Проведена оценка частоты микроядер 109 участников Всеукраинских школьных олимпиад по биологии 2001 и 2002 гг. Среднее значение частоты микроядер (ЧМЯ) составило $2,7 \pm 0,16$ ‰, что не превышает среднепопуляционного уровня 2 – 5 ‰. В 2001 г. было обследовано 59 человек. Среднее значение ЧМЯ для данной группы составило $3,23 \pm 0,2$ ‰. В 2002 г. было обследовано 50 человек, среднее значение ЧМЯ $2,07 \pm 0,2$ ‰. Среди 109 участников олимпиад были представители 10 областей, в основном жители областных центров. Области были разделены на три категории, исходя из уровня загрязнения ^{137}Cs , ^{90}Sr и изотопами плутония. Не было обнаружено статистически значимых отличий между средними значениями ЧМЯ у детей этих трех категорий. При разделении областей по уровню общего экологического неблагополучия также не наблюдалось статистически достоверных отличий между средними значениями ЧМЯ. Возможные причины отсутствия различий обсуждаются.

Вступление

Уровень нестабильности генома человека не является постоянной величиной. Он зависит от действия мутагенов различной природы. Последнее время все актуальнее становится вопрос о влиянии низких доз радиации, низких концентраций химических мутагенов и об их совместном воздействии на геном человека. При проведении экогенетического мониторинга часто возникают проблемы с выделением и изучением влияния на геном какого-либо одного фактора окружающей среды, поэтому в последнее время все чаще используется понятие общего “экологического неблагополучия” территории [1].

Экологическое неблагополучие окружающей среды является комплексным понятием и включает в себя ряд компонент, таких как радиационное, химическое загрязнение, урбанизированность территории. Каждая из этих компонент имеет свою специфику влияния на геном. Поэтому, проводя экогенетический мониторинг, важно рассматривать как общий уровень экологического неблагополучия территории, так и по возможности изучать каждую его компоненту отдельно.

Среди многочисленных методов, используемых в экогенетическом мониторинге для определения уровня нестабильности генома, одним из простых и доступных является микроядерный тест. Анализ микроядер может проводиться в различных пролиферирующих клетках человека, в частности в клетках буккального эпителия [2, 3]. Высокий среднепопуляционный уровень ЧМЯ является маркером повышенного риска онкологических заболеваний. Генетический мониторинг с использованием микроядерного теста в клетках буккального эпителия дает возможность определить влияние уровня экологического неблагополучия территории на геном человека и выделить экологически неблагополучные области исходя не только из общего уровня их загрязненности, но и из уровня генетической нестабильности особей, проживающих на этих территориях [4].

Цель работы - оценить ЧМЯ у детей из областей с разной степенью экологического неблагополучия и сопоставить уровни нестабильности генома со степенью экологического неблагополучия и загрязненности радиоактивными элементами.

Материалы и методы

Для определения уровня нестабильности генома использовали микроядерный тест в клетках буккального эпителия учащихся 8 - 11 классов школ. Сбор клеток проводился среди участников Всеукраинских школьных олимпиад по биологии 2001 и 2002 гг. В обследование

были включены дети, проживающие на территории 10 областей Украины с разной степенью радиационного загрязнения и общего экологического неблагополучия. Большинство обследованных являются жителями областных центров. Возраст детей находился в пределах от 13 до 16 лет, с практически равным соотношением мальчиков и девочек.

Для оценки ЧМЯ готовили препарат-мазок. Клетки с внутренней стороны щеки обследуемого брали стерильным шпателем и наносили на предметное стекло. Препараты фиксировали в 96%-ном метаноле 20 - 30 мин, красили 2%-ным красителем Гимза. Клетки анализировали по общепризнанным критериям. С каждого человека анализировали не менее по 1000 клеток [5].

Статистическую обработку результатов проводили по стандартной методике [6]. Для определения уровня общего экологического неблагополучия и радиационного загрязнения использовались данные электронной версии атласа по радиоактивному загрязнению территории Украины и карта общего экологического неблагополучия территории Украины [7, 8].

Результаты и обсуждения

Фотографии типичных микроядер, наблюдаемых нами в клетках буккального эпителия, представлены на рис. 1.

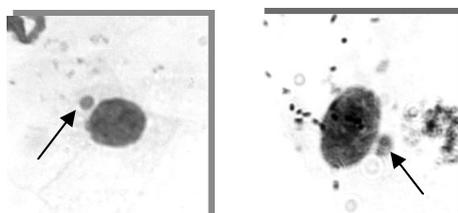


Рис.1. Микроядра в клетках буккального эпителия.

В ходе работы было обследовано 109 детей. Среднее значение ЧМЯ составило $2,7 \pm 0,16$ % при дисперсии $\sigma^2 = 2,61$. Среднее значение ЧМЯ не превышает среднепопуляционного уровня 2 - 5 % [3, 5].

Исследования проводились на протяжении двух лет. В 2001 г. было обследовано 59 человек. Среднее значение ЧМЯ для данной группы составило $3,23 \pm 0,21$ % при дисперсии $\sigma^2 = 2,5$. В 2002 г. было обследовано 50 человек, среднее значение ЧМЯ составило $2,07 \pm 0,2$ % при дисперсии $\sigma^2 = 2,05$. При сравнении средних значений ЧМЯ наблюдается достоверное его уменьшение в 2002 г. относительно 2001 г. В исследуемую группу детей вошло 28 человек, которые прошли обследование дважды с интервалом в один год (как в 2001, так и 2002 г.). В данном случае также наблюдается достоверное уменьшение ЧМЯ в 2002 г. по сравнению с 2001 г. Достоверное уменьшение ЧМЯ, возможно, связано со спецификой исследованной группы. Все участники олимпиад подвержены действию психоэмоционального стресса, уровень которого был определен тестом Спилбергера. Известно, что психоэмоциональный стресс увеличивает частоту хромосомных аберраций и микроядер в клетках [9]. Поскольку среди обследованных есть группа детей, которые участвовали в олимпиаде дважды, можно предположить развитие определенной адаптации к действию стрессорного фактора у этих детей, что может привести к понижению как индивидуальной, так и общей ЧМЯ в 2001 г. по сравнению с 2002 г., поскольку эта группа детей составляет практически половину от общего числа обследованных.

Среди 109 участников олимпиад были представители 10 областей, каждая из которых характеризуется разным уровнем загрязнения радиоактивными элементами - ^{137}Cs , ^{90}Sr и изотопами плутония. Внимание было уделено именно этим металлам, поскольку они являются наиболее распространенными радиоактивными элементами, присутствующими в окружающей среде. Нами была проведена сравнительная оценка средних значений ЧМЯ у детей этих 10 областей. Средние значения ЧМЯ для детей из каждой области и уровни загрязнения территорий различными радиоактивными элементами представлены в таблице .

ЧМЯ у детей из разных областей и уровни загрязненности территории

Область	Количество человек	Среднее значение ЧМЯ, ‰	Уровень загрязнения ^{137}Cs , Ки/км ²	Уровень загрязнения ^{90}Sr , Ки/км ²	Уровень загрязнения изотопами плутония, Ки/км ²
Житомирская	10	2,19±0,37	0,1 – 0,27	0,027 – 0,054	0 – 0,0027
Запорожская	14	3,3±0,5	0,054 – 0,1	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Киевская	11	2,8±0,32	0,54 – 1,08	0,1 – 0,27	0,0027 – 0,01
Львовская	9	2,6±0,57	0,054 – 0,1	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Николаевская	9	2,1±0,48	0,1 – 0,27	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Одесская	14	2,4±0,54	0,27 – 0,54	0,027 – 0,054	0,001-0,0027
Полтавская	11	2,7±0,45	0,1 – 0,27	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Ровенская	14	2,7±0,38	0,1 – 0,27	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Сумская	8	3,2±0,62	0,1 – 0,27	0,027 – 0,054	0 – 0,001
Черниговская	8	3,1±0,81	0,1 – 0,27	0,054 – 0,1	0,001 – 0,0027

Максимальное значение ЧМЯ наблюдалось у группы детей из Запорожья (3,3 ±0,5 ‰), а минимальное - у детей из Николаева (2,1 ±0,48 ‰). Разница между приведенными средними значениями (минимальным и максимальным) не достигает статистически достоверного результата при $p = 0,05$, однако приближается к нему.

Исходя из уровня радиационного загрязнения территории по трем элементам (^{137}Cs , ^{90}Sr и изотопам плутония), области были разбиты на три категории. В первую категорию вошла Киевская область, которая является наиболее загрязненной по всем трем элементам: для ^{137}Cs это 0,54 - 1,08 Ки/км², для ^{90}Sr 0,1 - 0,27 Ки/км², для изотопов плутония 0,0027 - 0,01 Ки/км². Вторую категорию составили Житомирская, Одесская и Черниговская области, которые характеризуются разным уровнем загрязнения радиоактивными элементами. Так, например, Житомирская область характеризуется минимальным уровнем загрязнения для изотопов плутония, в то время как уровень загрязнения ^{137}Cs и ^{90}Sr превышает минимальные значения для этих металлов. Многие области характеризуются одинаково низким уровнем загрязнения по трем элементам, например для ^{137}Cs - 0,054 - 0,27 Ки/км², для ^{90}Sr - 0,027 - 0,054 Ки/км², для изотопов плутония - 0 - 0,001 Ки/км². Так, в третью категорию вошли области, которые характеризуются относительно минимальным уровнем загрязнения по всем трем элементам: Запорожская, Львовская, Николаевская, Полтавская, Ровенская и Сумская. Средние значения ЧМЯ по трем категориям областей с разной степенью радиационного загрязнения представлены на рис. 2.

Различия в средних значениях ЧМЯ четырех категорий областей были статистически недостоверны. При формировании этих трех категорий было учтено исключительно загрязнение территории тремя радиоактивными элементами. Однако уровень экологического неблагополучия любой территории зависит не только от наличия нескольких радиоактивных элементов, но и от других факторов как физической, так и химической природы. Исходя из этого, было выделено три категории областей по степени их общего экологического неблагополучия. Понятие общего экологического неблагополучия включает в себя химическую компоненту, уровень урбанизации территории, радиационное загрязнение, а также природные залежи радиоактивных элементов. Средние значения ЧМЯ детей этих групп и уровни загрязнения окружающей среды представлены на рис. 3. Приведенные различия в средних значениях ЧМЯ статистически недостоверны. Это можно объяснить тем, что области характеризуются практически равным уровнем экологического неблагополучия, нет крайних по загрязненности (очень загрязненных областей или очень чистых) областей, т.е. наблюдается

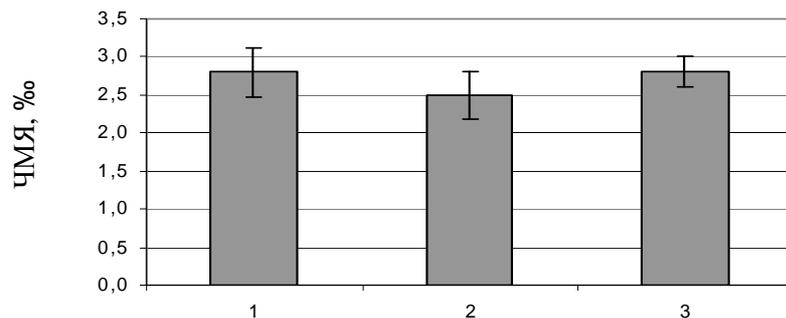


Рис. 2. Средние значения ЧМЯ для детей из категорий областей с разной степенью радиационного загрязнения: 1 – очень загрязненная (Киевская); 2 – средне загрязненная (Житомирская, Одесская, Черниговская); 3 – относительно низко загрязненная (Запорожская, Львовская, Николаевская, Полтавская, Ровенская, Сумская).

низкий уровень гетерогенности областей по степени общего экологического неблагополучия. Отсутствие достоверности также можно объяснить тем, что исследуемая выборка исходно формировалась не случайно.

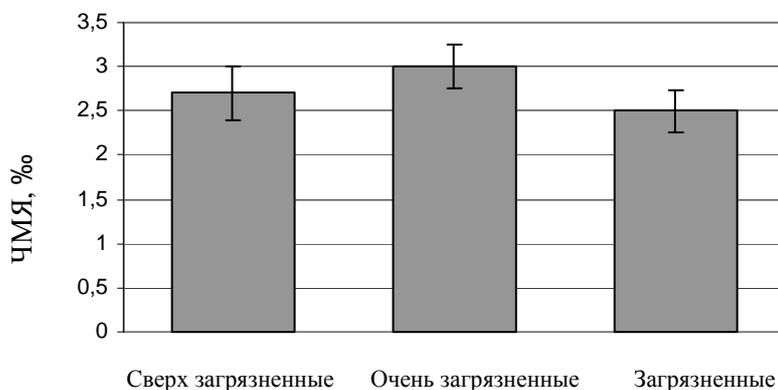


Рис. 3. Средние значения ЧМЯ и уровень экологического неблагополучия категорий областей: 1 – Запорожская, Одесская, Николаевская; 2 – Полтавская, Ровенская, Сумская, Черниговская; 3 – Житомирская, Киевская, Львовская.

Участники всеукраинских олимпиад – дети, которые прошли отборы на уровне школьных и областных олимпиад, т.е. выборка формировалась из детей благополучных семей с благоприятными условиями проживания, одинаковым социальным статусом. Таким образом, выборка заранее является “селективной” и не отображает в достаточной степени генофонд исследуемых областей.

Общее экологическое неблагополучие и радиационное загрязнение не являются определяющими факторами уровня нестабильности генома при данных уровнях загрязнения. Высокая чувствительность выбранного метода исследования к воздействию различных факторов, обусловленная спецификой физиологии клеток буккального эпителия, приводит к тому, что его адекватность для подобного рода исследований снижается. Индивидуальный уровень нестабильности генома обусловлен особенностями физиологического состояния организма в момент деления клеток, приводящего к определенному уровню ЧМЯ, которое может перекрывать эффекты, связанные с уровнем экологического неблагополучия с выраженной радиационной компонентой.

Выводы

Среднее значение ЧМЯ исследованной группы составляло $2,7 \pm 0,16$ ‰, что не превышает среднепопуляционный уровень 2 - 5 ‰. Наблюдалось достоверное уменьшение среднего значения ЧМЯ в 2002 г. относительно 2001. Не установлено связи между значением ЧМЯ и уровнем экологического неблагополучия территории с выраженной радиационной компонентой, а также уровнем общего экологического неблагополучия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Барияк И.Р., Бужиевская Т.И., Быкорез А.И. и др.* Генетические последствия загрязнения окружающей среды. – К.: Наук. думка, 1989. – 232 с.
2. *Нерсесян А.К.* Микроядерный тест в эксфолиативных клетках человека как метод изучения действия мутагенов/канцерогенов // Цитология и генетика. - 1996. – Т. 30, № 5. – С.91 – 95.
3. *Безруков В., Моисеенко Е., Рушковский С.и др.* Оценка уровня нестабильности генома зимовщиков // Вестн. Киев. ун-та. Біологія. – 2002 – Вып. 36 - 37. – С.19 – 22.
4. *Гуслицер Л.Н.* Эпидемиология опухолей: основные результаты исследований, проведенных в институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины // Experimental Oncology. – 2001. Vol. 23. - P. 229 – 235.
5. *Tolbert E. Paige, Shy M. Carl, Allen W. James.* Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development // Mut. Res. - 1992. - Vol. 271. - P. 69 – 77.
6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высш. шк., 1980. - 293 с.
7. *Радиационное загрязнение: Атлас / Министерство Украины по вопросам чрезвычайных ситуаций и делах защиты населения от последствий Чернобыльской катастрофы Украины.* - 2002.
8. *Атлас: Украина.* – К.: Картография, 1996. - 32 с.
9. *Керкис Ю.Я., Осетрова Т.Д., Логвинова В.В. и др.* Генетические и физиологические (гуморальные) факторы, контролируемые индуцированный и спонтанный мутационный процесс у млекопитающих // Проблемы теоретической и прикладной генетики. – 1973. – С. 75 – 93.

Поступила в редакцию 25.10.04,
после доработки - 28.02.05.

16 ОЦІНКА ЧАСТОТ МІКРОЯДЕР У ДІТЕЙ З ОБЛАСТЕЙ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ЕКОЛОГІЧНОГО НЕБЛАГОПОЛУЧЧЯ

М. В. Соболев, К. С. Афанасьєва, В. Ф. Безруков

Проведено оцінку частот мікроядер 109 учасників Всеукраїнських шкільних олімпіад з біології 2001 та 2002 рр. Середнє значення частоти мікроядер (ЧМЯ) становило $2,7 \pm 0,16$ ‰, що не перевищує середньопопуляційного рівня 2 – 5 ‰. У 2001 р. було обстежено 59 чоловік. Середнє значення ЧМЯ для даної групи $3,23 \pm 0,2$ ‰. У 2002 р. було обстежено 50 чоловік, середнє значення ЧМЯ $2,07 \pm 0,2$ ‰. Серед 109 учасників олімпіад були представники 10 областей, в основному мешканці обласних центрів. Области було розділено на три категорії, виходячи з рівня забруднення ^{137}Cs , ^{90}Sr та ізотопами плутонію. Не було встановлено статистично значущих відмінностей між середніми значеннями ЧМЯ у дітей цих трьох категорій. При розділенні областей за рівнем загального екологічного неблагополуччя також не спостерігалось статистично достовірних відмінностей між середніми значеннями ЧМЯ. Можливі причини відсутності відмінностей обговорюються.

16 THE ESTIMATION OF MICRONUCLEI FREQUENCIES OF CHILDREN FROM A REGIONS WITH DIFFERENT LEVEL OF ENVIRONMENTAL CONTAMINATION

M. V. Sobol, E. S. Afanasieva, V. F. Bezrukov

The level of micronuclei of 109 participant of All-Ukrainian olympiads during 2001 and 2002 was estimated. The average level of micronuclei was $2,7 \pm 0,16$ ‰ when normal frequency in population is 2 - 5 ‰. In 2001 were examined 59 persons. The average level of micronuclei in this group was $3,23 \pm 0,2$ ‰. In 2001 were examined 50 persons. The average level of micronuclei in this group was $2,07 \pm 0,2$ ‰. Comparative analysis of radionuclides pollution by ^{137}Cs , ^{90}Sr and isotopes of Pu and general ecological status of different regions with micronuclei level was carried out. Relation between this parameters was discussed.