
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА У МУЖЧИИ ИЗ ДВУХ ВЬЕТНАМСКИХ ДЕРЕВЕНЬ С РАЗНОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИЕЙ

УМНОВА Н.В.⁽¹⁾, СЫЧЕВА Л.П.⁽²⁾, КОВАЛЕНКО М.А.⁽²⁾, ЖУРКОВ В.С.⁽²⁾,
РУМАК В.С.⁽¹⁾, ВО ВЬЕТ КЫОНГ⁽³⁾, ФАМ КХАК ЛИНЬ⁽³⁾

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды диоксинами негативно сказывается на здоровье населения, приводя к системным нарушениям, объединенным понятием «диоксиновая патология» [3]. Серьезные нарушения здоровья у детей и взрослого населения выявлены во Вьетнаме на территориях, где применяли дефолиант «Оранжевый агент», содержащий феноксигербициды и диоксины, включая 2, 3, 7, 9-тетрахлордибензо-*п*-диоксин (ТХДД) [3, 4, 15].

Индикаторами негативных эффектов от воздействия различных факторов до проявления клинических симптомов заболеваний являются показатели изменений клеточных процессов. Такими индикаторами служат параметры цитогенетического статуса [13, 10, 6]. Важной для нас оказалась возможность оценки этих параметров с помощью неинвазивного кариологического теста на клетках буккального и назального эпителия, тем более, что кожа и слизистые оболочки являются тканями-мишенями канцерогенного и токсического действия ТХДД [16].

Целью данного исследования была оценка состояния эпителиальных клеток слизистых оболочек у взрослого населения двух вьетнамских деревень с отличающимися по экотоксикологической ситуации условиями проживания. Одна из деревень расположена на территории применения в 1962÷1971 гг. «Оранжевого агента» и загрязнена диоксинами (ЗД), вторая - на контрольной территории. Влияние экспозиции экотоксикантами (проживания в ЗД) на цитогенетический статус мужчин оценивали сравнивая средние значения изучаемых показателей в группах воздействия и контроля в зависимости от экспозиции, и контактов с факторами риска, профессиональной нагрузки, длительности проживания в деревне, возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Население. Сравнение показателей цитогенетического статуса провели в двух группах взрослых мужчин из провинции Биньзыонг во Вьетнаме - среди экспонированного населения ЗД (45 человек из деревни Биньми) и контрольной деревни Чаньми (43 человека), где «Оранжевый агент» во время войны не применяли. Группы воздействия и контроля представлены мужчинами одной национальности - кинь (вьеты) в возрасте 18÷61 года. В контрольной деревне 35 человек проживали в течение жизни, остальные - более 10 лет; в ЗД - 36 человек проживали в течение всей жизни, остальные - более 5 лет. Административные и подобные (не связанные с интенсивными контактами с сельскохозяйственными химикатами) должности занимали 69,8% мужчин в Чаньми и 51,1% в Биньми, остальные значительную часть времени занимались сельскохозяйственными работами. От каждого индивида было получено согласие на проведение обследования. Для учета сопутствующих факторов проведено анкетирование. По показателям возраста, вредным привычкам, профессии и условиям жизни группы были сходными, за рядом исключений. Обследования были выполнены в 2008÷2009 году.

Факторы. На период обследования средний уровень загрязнения почвы (до глубины 15 см) ТХДД в ЗД составлял 2,6 (0,7÷10,4) нг/кг; в контрольном районе - 0,18 нг/кг [4]. Уровень ТХДД в крови мужчин из ЗД на период обследования составлял 8,9 пг/г липидов, в контроле - 3,7 пг/г липидов [4]. Разделение групп на подгруппы относительно курения оказалось неравномерным - курящих мужчин оказалось больше в контрольной деревне (около 80%, против 60% в Биньми), что, вполне возможно, отражает различия в состоянии здоровья мужчин из этих деревень. Среди обследованных в Биньми оказалось вдвое больше молодых (до 39 лет) мужчин, родившихся уже после войны - 71.1%.

Методы. Отбор проб слизистой, приготовление и анализ препаратов проводили в соответствии с методами, разработанными в НИИ ЭЧиГОС, специалистами этого института [1, 6, 8]. Деревянным шпателем собирали клетки со слизистой оболочки щеки и готовили мазки. Ватной палочкой собирали клетки полости носа и готовили отпечатки. Препараты фиксировали этанолом и уксусной кислотой в соотношении 3:1, хроматин окрашивали 2,5% раствором ацетоорсеина («Merck») при 37°C, цитоплазму докрашивали 1% раствором светлого зеленого («ICN Biomedicals Inc.») при 20°C в течение 30 секунд. Препараты шифровали и проводили микроскопический анализ при

увеличении $\times 10^3$ (масляная иммерсия) с использованием микроскопа Olympus BX-41. Анализировали по 1000 клеток от каждого индивида при исследовании каждого органа. В соответствии с рекомендациями [11] и классификацией [6] учитывали несколько типов кариологических показателей, биологическое значение, критерии определения и значимость которых описаны ранее [6]. В анализируемый перечень (Табл. 2) входили: цитогенетические показатели (частота клеток с микроядрами, протрузиями, ядрами атипичной формы); показатели пролиферации (частота двуядерных клеток и клеток со сдвоенными ядрами); показатели ранней стадии деструкции ядра (частоту клеток с перинуклеарными вакуолями, повреждением ядерной мембраны, конденсацией, вакуолизацией хроматина, началом кариолизиса); показатели поздней стадии деструкции ядра (кариопикноз, кариорексис, полный кариолизис).

Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрического анализа с использованием показателя Манна-Уитни и рангового коэффициента корреляции Спирмена. Достоверность изменений оценивали при значимости $p < 0,05$ и ниже.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние экспозиции (проживания на загрязненных диоксинами территориях) на показатели цитогенетического статуса.

Сравнение двух групп мужчин по цитогенетическим показателям и показателям пролиферации слизистых оболочек обоих органов не выявило значимых отличий (Табл. 1). Статистически значимые отличия выявлены по показателям деструкции ядра, как на ранней, так и на поздней стадии гибели клеток в обоих органах (Табл. 1). В слизистой оболочке ротовой полости жителей ЗД в 2,7 раза повышена частота встречаемости клеток с повреждением ядерной мембраны. Выявлено изменение соотношения путей деструкции ядра. Так, в 2,2 раза снижена встречаемость клеток с конденсацией хроматина и в 1,2 раза - с кариопикнозом, и, напротив, увеличена частота клеток с началом кариолизиса (в 2,2 раза) и завершенным кариолизисом (в 2,8 раза). Отмечено незначимое повышение суммарного апоптотического индекса в группе мужчин из ЗД. При исследовании эпителиальных клеток слизистой оболочки носа отмечены близкие изменения. У жителей ЗД почти все показатели деструкции ядра (кроме клеток с перинуклеарной вакуолью и пикнозом) оказались в 1,3÷2 раза выше по сравнению с контролем и, в основном, различия были статистически достоверны (Табл. 1).

Влияние курения на показатели цитогенетического статуса.

Среди обследованных в контрольной деревне мужчин оказалось всего 7 некурящих, в то время как с ЗД некурящих мужчин было почти 40%. Сопоставление анализируемых показателей отдельно среди групп курящих и некурящих мужчин из двух деревень приблизительно отражало тенденции, наблюдаемые в общих группах. Тем не менее, следует отметить, что для ряда показателей пролиферации и деструкции назальных эпителиоцитов в группе курящих значимость изменений была снижена относительно некурящих, тогда как цитогенетические показатели (встречаемость протрузии) оказались значимыми (Табл. 2). Аналогично изменялись показатели для буккальных клеток, хотя стоит отметить значимое влияние курения на их пролиферацию в группе мужчин из ЗД (Табл. 1).

Влияние профессиональных факторов на показатели цитогенетического статуса.

Большая часть обследованных мужчин были крестьянами с ежедневным трудом с применением обычных для них сельскохозяйственных технологий. Однако, часть мужчин больше занималась административной работой (в органах управления, образовательных учреждениях, торговле и т.п. - группа АР).

Сравнение цитогенетического статуса мужчин, не занимающихся сельским хозяйством.

Учитывая возможность негативного влияния определяемых крестьянской практикой факторов на состояние здоровья сравнили средние значения показателей в двух группах индивидов, которые не были постоянно заняты в сельском хозяйстве (группы АР - 30 человек в Чаньми и 23 человека в Биньми). По цитогенетическим показателям и показателям пролиферации эпителиальных клеток ротовой полости и носа отличий не выявили. Показатели деструкции ядра эпителиоцитов значимо отличались в группах из двух деревень. При анализе буккальных клеток - по частоте клеток с перинуклеарными вакуолями ($P < 0,05$); повреждением ядерной мембраны ($P < 0,01$); конденсацией хроматина ($P < 0,001$); началом кариолизиса ($P < 0,05$); завершенным кариолизисом ($P < 0,001$); суммарной частоте клеток на поздних стадиях деструкции ядра ($P < 0,001$); апоптотическому индексу ($P < 0,05$). При анализе назальных клеток отличия выявлены по частоте клеток с конденсацией хроматина ($P < 0,05$); кариорексисом ($P < 0,05$); завершенным кариолизисом ($P < 0,01$) суммарной частоте клеток на поздних стадиях деструкции ядра ($P < 0,01$). Направленность изменений показателей в группе АР из ЗД - по сравнению с АР контролем была аналогичной, наблюдаемой при сравнении всех мужчин в двух деревнях.

Таблица 1. Результаты сравнительного анализа показателей цитогенетического статуса в двух группах вьетнамских мужчин из двух деревень с разной экоксикологической ситуацией в зависимости от курения

Показатели	Деревня Чаньми (СМ)			Деревня Биньми (ВМ)			P, некурящие	P, курящие	P, Всего
	Некурящие, n = 7	Курящие, n = 35	Всего, n = 43	Некурящие, n = 17	Курящие, n = 26	Всего, n = 45			
Микродра (МЯ)	0.29 ± 0.18	0.54 ± 0.12	0.49 ± 0.10	0.17 ± 0.09	0.42 ± 0.13	0.33 ± 0.08	0.513	0.495	0.261
Протрузии (ПР)	2.71 ± 0.75	3.4 ± 0.28	3.23 ± 0.26	3.56 ± 0.53	2.65 ± 0.37	3.02 ± 0.31	0.358	0.046*	0.390
Сумма МЯ и ПР	3.00 ± 0.82	3.94 ± 0.34	3.72 ± 0.33	3.72 ± 0.57	3.11 ± 0.39	3.38 ± 0.32	0.444	0.119	0.438
Двухядерные	1.14 ± 0.40	1.29 ± 0.2	1.26 ± 0.17	1.33 ± 0.31	1 ± 0.16	1.13 ± 0.16	0.850	0.448	0.644
Сдвоенные	1.71 ± 0.36	1.29 ± 0.17	1.24 ± 0.15	1.39 ± 0.20	1.04 ± 0.19	1.33 ± 0.21	0.362	0.766	0.893
Конденсация хроматина	64.29 ± 15.87	76.97 ± 6.24	73.74 ± 5.77	106.83 ± 8.09	98.23 ± 9.28	101.76 ± 6.23	0.027*	0.069	0.002**
Кариолизис ранний	44.57 ± 11.91	80.2 ± 7.32	72.77 ± 6.70	91.78 ± 10.56	99.19 ± 7.36	95.60 ± 5.97	0.021*	0.105	0.024*
Кариопикноз	10.57 ± 1.63	10.66 ± 1.04	10.51 ± 0.89	13.17 ± 2.08	9.65 ± 1.2	11.09 ± 1.10	0.761	0.401	0.887
Кариорексис	2.43 ± 0.84	5.2 ± 0.63	4.67 ± 0.51	10.06 ± 1.75	7.85 ± 1.12	8.76 ± 0.96	0.001**	0.079	0.000**
Кариолизис поздний	6.14 ± 2.63	11.54 ± 1.69	10.40 ± 1.48	17.72 ± 2.28	22.12 ± 2.61	20.36 ± 1.78	0.019*	0.000**	0.000**
Ранний апоптоз	130.00 ± 25.13	176 ± 12.01	165.6 ± 11.14	215.94 ± 16.26	216.58 ± 15.1	215.51 ± 10.79	0.013*	0.038*	0.002**
Поздний апоптоз	19.14 ± 3.38	27.4 ± 2.67	25.58 ± 2.32	40.94 ± 4.83	39.62 ± 3.5	40.20 ± 2.76	0.011*	0.011*	0.000**

	Букальные эпителициты										
	0.71 ± 0.36	0.91 ± 0.25	0.86 ± 0.21	6.22 ± 5.53	0.65 ± 0.19	2.27 ± 2.21	0.832	0.908	0.800		
Микродра (МЯ)	0.71 ± 0.36	0.91 ± 0.25	0.86 ± 0.21	6.22 ± 5.53	0.65 ± 0.19	2.27 ± 2.21	0.832	0.908	0.800		
Протрузии (ПР)	2.00 ± 0.93	2.29 ± 0.34	2.21 ± 0.31	1.82 ± 0.38	1.65 ± 0.77	1.70 ± 0.47	0.820	0.012*	0.056		
Сумма МЯ и ПР	2.57 ± 0.92	3.2 ± 0.17	8.05 ± 0.40	2.53 ± 0.53	2.31 ± 0.84	2.36 ± 0.54	0.974	0.029*	0.063		
Двухдерные	1.86 ± 0.59	2.57 ± 0.4	2.47 ± 0.34	3.47 ± 0.56	2.65 ± 0.55	2.95 ± 0.39	0.146	0.917	0.382		
Сдвоенные	3.00 ± 0.87	3.45 ± 0.44	3.56 ± 0.42	4.18 ± 0.67	5.38 ± 0.71	4.84 ± 0.50	0.520	0.034*	0.073		
Перинуклеарная вакуоль	3.29 ± 1.30	9.31 ± 1.51	8.30 ± 1.29	6.88 ± 2.33	3.96 ± 0.76	5.80 ± 1.22	0.456	0.012*	0.076		
Повреждение мембраны	20.14 ± 11.45	51.66 ± 11.02	49.23 ± 9.71	186.29 ± 27.16	102.31 ± 14.09	133.80 ± 14.68	0.004**	0.002**	0.000**		
Кариолизис ранний	287.71 ± 84.44	309.03 ± 31.86	304.49 ± 28.94	336.53 ± 37.50	394.92 ± 24.77	374.07 ± 20.89	0.525	0.023*	0.000**		
Конденсация хроматина	173.43 ± 32.28	245.86 ± 23.45	231.05 ± 20.27	90.00 ± 13.88	118.38 ± 15.42	105.52 ± 10.79	0.039*	0.000**	0.000**		
Кариопикноз	18.57 ± 5.71	34.14 ± 3.97	31.56 ± 3.45	15.35 ± 3.36	24.15 ± 3.33	21.11 ± 2.46	0.504	0.113	0.023*		
Кариорексис	62.57 ± 16.38	31.94 ± 6.14	36.42 ± 5.88	25.76 ± 5.22	19.77 ± 4.32	21.75 ± 3.27	0.013*	0.105	0.059		
Кариолизис поздний	113.14 ± 69.84	78.31 ± 15.43	87.16 ± 16.84	241.18 ± 31.02	246.26 ± 30.33	247.95 ± 21.47	0.017*	0.000**	0.000**		
Ранний апоптоз	484.57 ± 79.75	615.87 ± 34.17	593.07 ± 31.21	585.28 ± 50.45	619.58 ± 30.49	605.42 ± 26.55	0.183	0.765	0.900		
Поздний апоптоз	194.29 ± 62.53	144.4 ± 16.67	155.14 ± 16.97	266.61 ± 33.27	292.19 ± 30.42	284.36 ± 22.03	0.109	0.000**	0.000**		

Примечание:

- информация о курении отсутствует для нескольких обследованных;

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 - достоверность различий частоты показателей слизистой оболочки щеки или носа (но не между органами) у мужчин Чаньми и Биньми по критерию Манна-Уитни.

Влияние сельскохозяйственных работ на цитогенетический статус

В контроле не выявили влияния факторов, связанных с сельскохозяйственными работами (контактов с удобрениями, пестицидами и т.п.). На рисунке 1 показано (контрольные значения на рисунке отражены прямой линией), что кариологические показатели слизистых оболочек щеки и носа не различались между группами АР (30 человек) и мужчин, работающих с удобрениями и пестицидами (10 человек); АР и мужчин, работающих с удобрениями, пестицидами и животными (12 человек).

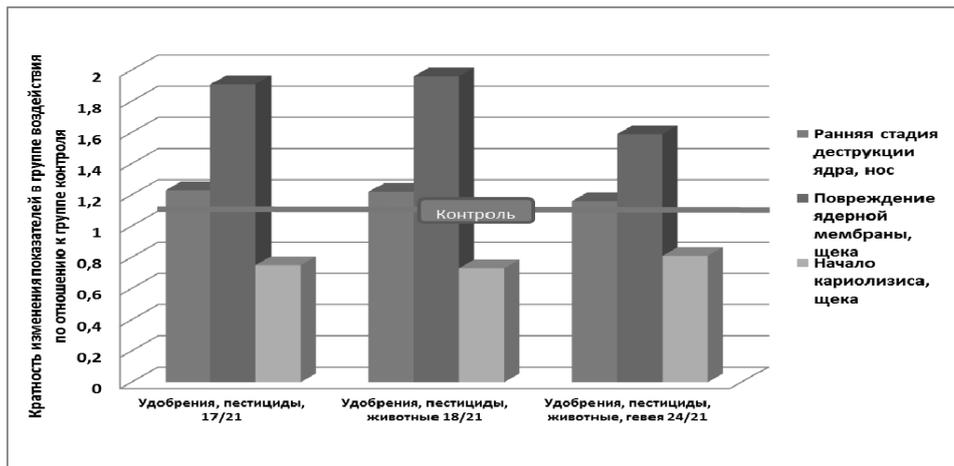


Рис. 1. Сравнение кариологических показателей у жителей деревни Биньми, работающих и не работающих в сельском хозяйстве (только статистически значимые изменения). Указано количество человек в группе воздействия и контроля

В группе мужчин из ЗД три показателя ранней стадии деструкции ядра статистически значимо отличались у работающих в сельском хозяйстве мужчин и АР (рис. 1). Частота буккальных эпителиальных клеток с повреждением ядерной мембраны была значимо выше при контактах с пестицидами и удобрениями (17 человек; $P=0,023$); с пестицидами, удобрениями и животными (18 человек; $P=0,014$); с пестицидами, удобрениями, животными и гевеей (24 человека; $P=0,040$). Частота буккальных клеток с началом кариолизиса была значимо ниже при таких контактах - с пестицидами и удобрениями (17 человек; $P=0,014$); с пестицидами, удобрениями и животными (18 человек; $P=0,008$); с пестицидами, удобрениями, животными и гевеей (24 человека; $P=0,040$). Частота эпителиальных клеток слизистой оболочки носа на ранней стадии деструкции ядра была значимо выше при контактах с пестицидами и удобрениями (17 человек; $P=0,014$); с пестицидами, удобрениями и животными (18 человек; $P=0,010$); с пестицидами, удобрениями, животными и гевеей (24 человека; $P=0,034$).

Влияние длительности экспозиции экотоксикантами (проживания на загрязненной территории) и возраста на цитогенетический статус.

В таблице 2 представлены значимые корреляции ($P < 0,05$), которые выявлены только у жителей ЗД. С длительностью экспозиции коррелировало несколько показателей пролиферации буккальных клеток (со сдвоенными ядрами, $R = 0,41$; сумма двуядерных клеток и клеток со сдвоенными ядрами, $R = 0,35$) и назальных клеток с перинуклеарными вакуолями, $R = 0,42$ (табл. 2). Более того частота двуядерных клеток была повышена в 2 раза только у жителей, которые родились в период войны и длительное время (почти 40 лет) проживали в ЗД. В контроле такие отличия не выявлены.

Ухудшение с возрастом некоторых цитогенетических показателей, показателей пролиферации и апоптоза отмечено в обеих группах (коэффициент корреляции в пределах $0,30 \div 0,42$, табл. 2). В контрольной группе отмечено повышение с возрастом частоты клеток буккального эпителия с протрузиями ядра, конденсацией хроматина и пикнозом, назального эпителия с кариорексисом. В ЗД выявлена взаимосвязь с возрастом другого спектра показателей и большего их количества.

Сравнение клеточных показателей в двух слизистых оболочках.

Результаты, представленные в таблице 2, показывают, что каждый вид эпителия (буккальный и назальный) имеет характерные особенности, хотя уровень частот их кариологических показателей приблизительно одинаков и направленность изменений также для большинства показателей совпадает.

Частота клеток с микроядрами в назальном эпителии приблизительно в 2 раза ниже, а клеток с протрузиями в каждой деревне была в 1,5 раза выше, чем в эпителии щеки. Среди показателей деструкции ядра в эпителии носа чаще встречаются клетки с перинуклеарными вакуолями, в то время как частоты других показателей деструкции ядра ниже, чем в эпителии щеки. Почти все показатели гибели клеток в ЗД выше, чем в контроле. Характерное для буккального эпителия изменение соотношения между конденсацией хроматина и кариолизисом в назальном эпителии не выявлено. Значимые корреляции в обеих тканях отмечены между частотными характеристиками: микроядер ($N=87$; $R=0,26$; $P=0,015$); суммарной частоты цитогенетических показателей (микроядер и протрузий, $N=87$; $R=0,24$; $P=0,022$); кариорексиса ($N=87$; $R=0,22$; $P=0,039$); кариолизиса ($N=87$; $R=0,24$; $P=0,022$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние экспозиции экотоксикантами (прежде всего, диоксинами) на показатели цитогенетического статуса у вьетнамского населения мы исследуем с 1991 года и выявили повышенную нестабильность генома жителей загрязненных территорий [17, 7, 4, 21]. Наиболее выраженные изменения были отмечены у женщин, обследованных в 1994÷1997 гг. [17], когда частота эпителиальных клеток с микроядрами в загрязненной деревне была в 3 раза выше, чем в контроле. При обследовании детей в 2005 году [7] было зафиксировано трехкратное повышение уровня цитогенетических нарушений (за счет протрузий ядра) по сравнению с контролем, почти двукратное повышение частоты двуядерных клеток ($P < 0,05$) и небольшое, но статистически значимое, снижение частоты клеток в апоптозе.

Содержание ТХДД в почве деревни и крови жителей к моменту сбора анализируемых в этой статье проб снизилось по сравнению с послевоенным периодом [4]. Средние показатели частоты цитогенетических нарушений у мужчин из двух деревень практически не различались, причем вне зависимости от контактов с сопутствующими факторами риска (Табл. 2).

Прямого генотоксического действия конгенеры диоксинов не оказывают [16]. Полученные нами данные не подтверждают возможность непосредственного повреждения ДНК с последующим повышением частоты клеток с микроядрами в ЗД. Ранее также не были выявлены отличия по частоте буккальных клеток с микроядрами и лимфоцитов с абберациями хромосом при обследовании российских женщин, проживающих в условиях разной экспозиции диоксинами в г. Чапаевске [19]. Частота двуядерных клеток, как косвенный показатель пролиферации, статистически значимо не различались между сравниваемыми группами мужчин. Вместе с тем, практически двукратное повышение частоты двуядерных клеток слизистой ротовой полости наблюдали в старшей возрастной группе мужчин на загрязненной территории.

Таблица 2. Зависимость кариологических показателей и продолжительности проживания в деревне и возраста обследуемых. Результаты корреляционного анализа с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена

Фактор	Показатель	Орган	Группа из деревни	Количество обследуемых	Коэффициент корреляции (R)	Уровень значимости (P)
Длительность экспозиции (проживания)	Клетки со сдвоенными ядрами	Щека	Биньми	44	0,410	0,006
	Сумма двуядерных клеток и клеток со сдвоенными ядрами	Щека	Биньми	44	0,348	0,021
	Клетки с перинуклеарными вакуолями	Нос	Биньми	45	0,415	0,005
Возраст	Клетки с протрузиями ядра	Щека	Чаньми	42	0,333	0,031
	Клетки со сдвоенными ядрами	Щека	Биньми	44	0,376	0,012
	Сумма двуядерных клеток с клеток со сдвоенными ядрами	Щека	Биньми	44	0,389	0,009
	Клетки с конденсацией хроматина	Щека	Чаньми	42	0,318	0,040
	Клетки с кариопикнозом	Щека	Чаньми	42	0,361	0,019
	Клетки с микроядрами	Нос	Биньми	45	0,311	0,037
	Клетки с протрузиями ядра	Нос	Биньми	45	-0,37	0,012
	Клетки с перинуклеарными вакуолями	Нос	Биньми	45	0,405	0,006
	Клетки с началом кариолизиса	Нос	Биньми	45	0,357	0,016
	Клетки с кариорексисом	Нос	Чаньми	42	0,377	0,014
	Клетки на ранней стадии деструкции ядра	Нос	Биньми	45	0,303	0,043

В сравниваемых группах мужчин выявлены свидетельства изменений соотношений стадий деструкции ядра в процессе гибели клеток. В группе ЗД были повышены показатели частоты буккальных клеток с повреждением кариолеммы (в 2,7 раза), с началом кариолизиса (в 1,2 раза); с полным кариолизисом ядра (в 2,9 раза). Одновременно были снижены показатели частоты буккальных клеток с конденсацией хроматина, пикнозом и кариорексисом (в 1,5÷2 раза). В целом в группе мужчин из ЗД зарегистрирован рост показателей ранних и поздних стадий апоптоза, так как среди всех стадий деструкции ядра преобладала доля клеток с кариолизисом.

Отличия цитогенетического статуса у обследованных нами мужчин и детей могут быть связаны как с уровнем экспозиции, так и с более высокой чувствительностью детского организма к воздействиям различных факторов [9, 4]. Заметим, что современный цитогенетический статус мужчин оказался более «нормализованным», возможно указывая на тенденцию к улучшению общего и цитогенетического статуса жителей ЗД.

Влияние ряда сопутствующих факторов (длительности экспозиции/проживания, профессиональной вредности, возраста) на цитогенетический статус всех обследованных мужчин определили с применением корреляционного анализа. Значимые коэффициенты корреляции при оценке влияния экспозиции и занятия сельским хозяйством определены только в группе мужчин ЗД (Табл. 2) по отдельным показателям пролиферации и/или деструкции ядра клеток (повреждению ядерной мембраны, клеток со сдвоенными ядрами, клеток с перинуклеарными вакуолями). В основном эти показатели характеризуют состояние ядерной мембраны (кариолеммы) и говорят о нарушении ее формирования, образования вакуолей между двумя мембранами или об их повреждении с выходом хроматина в цитоплазму.

Полученные данные об усилении деструктивных процессов в эпителиальных клетках слизистых оболочек жителей загрязненной экотоксикантами территории свидетельствуют о явных изменениях у них регуляции процессов клеточного цикла и апоптоза, важную роль в которых играют диоксиновые рецепторы - AhR [16]. Перенос в ядро и взаимодействие комплекса ТХДД-AhR с диоксинчувствительными элементами ДНК индуцирует экспрессию множества генов, прежде всего - CYP1A1- и CYP1A2-зависимых ферментов, участвующих в метаболизме многих токсикантов [18].

Хроническая интоксикация организма человека диоксинами может приводить к усилению негативного влияния множества сопутствующих химических и биологических факторов [4]. Усиление метаболизма ксенобиотиков в присутствии ТХДД включает цепочку молекулярных

событий, приводящих к избыточному образованию свободных радикалов, накоплению пероксида водорода [2]. Они взаимодействуют с фосфолипидами клеточных мембран и субклеточных образований, активируют перекисное их окисление и вызывают структурные нарушения мембран в результате окислительного стресса [16]. Данные о влиянии ТХДД на апоптоз противоречивы. Стимуляция пролиферации и ингибирование апоптоза определено при исследовании печени животных [20], в буккальном эпителии детей [7]. ТХДД вызывает рак молочной железы, и считают, что в данном случае механизм канцерогенного действия также заключается в ингибировании апоптоза [12]. Однако ТХДД оказывал антипролиферативное и апоптогенное действие на клетки тимуса крыс, характеризующиеся высоким митотическим потенциалом [5]. По-видимому, индукция или ингибирование апоптоза определяется концентрацией ТХДД в тканях. Причины в сдвигах соотношения процессов деструкции ядра (конденсации хроматина и кариолизиса) пока не ясны и требуют дополнительных исследований. Ухудшение показателей цитогенетического статуса населения ЗД с возрастом и длительностью экспозиции может быть связано с аккумуляцией диоксинов в жировой ткани и печени, медленным выведением из организма [22].

Впервые проведен анализ цитогенетического статуса населения по показателям назального эпителия. Подготовка препаратов к исследованию для этой ткани сложнее в сравнении с буккальным эпителием, однако можно предположить, что экспозиция при ингаляционном воздействии химических соединений на клетки носа может быть выше [1, 14]. Мы проверили гипотезу о более выраженном в ЗД эффекте факторов на эпителий носа, однако отличия в чувствительности двух тканей оказались приблизительно сходными. В основном отмечена одинаковая направленность изменений исследуемых показателей. Однако в слизистой оболочке носа были определены изменения ряда дополнительных показателей деструкции, что подтвердило гипотезу о более выраженном проявлении эффектов в слизистой оболочке носа. Вместе с тем, методология оценки цитогенетического статуса буккального эпителия значительно лучше разработана и предпочтительно использовать именно ее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У проживающих на загрязненных диоксинами территориях вьетнамских мужчин выявлено небольшое изменение цитогенетического статуса, характеризующееся повышением в назальном эпителии уровня апоптоза (по всем показателям); изменением в буккальном эпителии соотношения отдельных процессов программируемой гибели клеток (снижением конденсации хроматина и пикноза при повышении кариолизиса). Частота клеток с микроядрами, протрузиями, двумя ядрами у экспонированных мужчин не отличалась от контроля.

В условиях экспозиции диоксинами отмечено ухудшение показателей цитогенетического статуса при занятии сельскохозяйственными работами (контакты с пестицидами, удобрениями, животными, гевеей), что может свидетельствовать о модифицирующем действии сопутствующих химических и биологических факторов на загрязненных территориях. Усиление негативного влияния экспозиции на цитогенетический статус обследуемых связано с повышением частоты клеток со сдвоенными ядрами в эпителии щеки и клеток с перинуклеарными вакуолями в эпителии носа. Ухудшение ряда показателей цитогенетического статуса с возрастом отмечено преимущественно в условиях экспозиции диоксинами (при варьировании коэффициента корреляции в пределах 30÷40%).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляева Н.Н., Сычева Л.П. и др., *Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека*, Методические рекомендации, М.: ГУНИИ ЭЧиГОС им.А.Н.Сысина РАМН, 2005.
2. Голиков С.Н., Румак В.С., Софронов Г.А., Умнова Н.В., *Отдаленные эколого-генетические последствия воздействия диоксинсодержащих экотоксикантов*, Вестник РАМН, 1998, № 1, с.42-50.
3. Позняков С.П., Румак В.С., Софронов Г.А., Умнова Н.В., *Диоксины и здоровье человека*, Научные основы выявления диоксиновой патологии. Под ред. Д.С.Павлова, Н.П.Бочкова, Г.А.Софронова, СПб.: Наука, 2006, 274с.
4. Румак В.С., Умнова Н.В., Софронов Г.А., *Молекулярные и клеточные аспекты токсичности диоксинов*, Вестник РАМН, 2014, №3-4, с.77-84.
5. Сибиряк, Д.С., *Влияние супериндуктора цитохрома P4501A 1,2,3,7,8-тетрахлордibenзо-p-диоксина на пролиферативную активность и апоптоз лимфоцитов*, Автореф.дисс. к.м.н., М. 2005, 113 с.
6. Сычева Л.П., *Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека*, Медицинская генетика, 2007, 11:3-11.
7. Сычева Л.П., Можяева Т.Е., Умнова Н.В. и др., *Оценка цитогенетических и других кариологических показателей в эксфолиативных буккальных клетках вьетнамских детей из района применения диоксинсодержащих гербицидов*, Вестник РАМН, 2008, №1, с.19-23.
8. Сычева Л.П., *Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека*, Гигиена и санитария, 2012, №6, с.68-72.

9. Умнова Н.В., Жученко Н.А., Лазаренко Д.Ю., Ву Хонг Зиеп, Хоанг Ань Тует, Нгуен Куок Ан, Румак В.С., *Эколого-генетические исследования здоровья послевоенных поколений в провинциях Куанг Чи и Бинь Зьонг*, В кн.: Окружающая среда и здоровье человека в загрязненных диоксинами регионах Вьетнама, М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011, с.130-185.
10. Bolognesi C., Knasmueller S., Nersesyan A., Thomas P., Fenech M., *The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery*, Mutat. Res., 2013, **753**(2):100-113.
11. Bonassi S., Biasotti B., Kirsch-Volders M. et al., *State of the art survey of the buccal micronucleus assay-a first stage in the HUMN(XL) project initiative*, Mutagenesis, 2009, **24**:295-302.
12. Davis J.W., Melendez K., Salas V.M. et al., *2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) inhibits growth factor withdrawal-induced apoptosis in the human mammary epithelial cell line, MCF-10A*, Carcinogenesis, 2000, **21**(5):881-886.
13. Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmueller S., Fenech M., *The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps*, Mutat. Res., 2008, **659**(1-2):93-108.
14. Knasmueller S., Holland N., Wultsch G., Jandl B., Burgaz S., Misik M., Nersesyan A., *Use of nasal cells in micronucleus assays and other genotoxicity studies*, Mutagenesis, 2011, **26**(1):231-238.
15. Nishijo M., Pham T.T., Nguyen A.T., Tran N.N., Nakagawa H., Hoang L.V., Tran A.H., Morikawa Y., Ho M.D., Kido T., Nguyen M.N., Nguyen H.M., Nishijo H., *2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in breast milk increases autistic traits of 3-year-old children in Vietnam*, Mol Psychiatry, 2014, **19**(11):1220-1226.
16. NTP TR 521. *NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) (CAS No. 1746-01-6) in female Harlan Sprague-Dawley rats (Gavage Studies)*. National Toxicology Program, Natl. Toxicol. Program Tech. Rep. Ser., 2006, **521**:4-232.
17. Oumnova N., Roumak V., *Ecogenetic consequences of the Agent Orange and dioxin-containing ecotoxicological factor exposure*, Organohalogen Compounds, 1998, **38**:341-344.
18. Puga A., Ma C., Marlowe J.L., *The aryl hydrocarbon receptor cross-talks with multiple signal transduction pathways*, Biochem Pharmacol, 2009, **77**(4):713-722.
19. Revazova J., Yurchenko V., Sycheva L., Khripach L., Ingel F., Tsutsman T., Zhurkov V., Katosova L., Platonova V., *Cytogenetic investigation of women exposed to different levels of dioxins in Chapaevsk town*, Chemosphere, 2001, **43**(4-7):999-1004.

20. Stinchcombe S., Buchmann A., Bock K.W., Schwarz M., *Inhibition of apoptosis during 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated tumour promotion in rat liver*, Carcinogenesis, 1995, **16**(6):1271-1275.
21. Sycheva L.P., Umnova N.V., Kovalenko M.A., Zhurkov V.S., Shelepchikov A.A., Roumak V.S., *Dioxins and cytogenetic status of villagers after 40 years of agent Orange application in Vietnam*, Chemosphere, 2016, **144**:1415-1420.
22. Tritscher A.M., Mahler J., Portier C.J., Lucier G.W. and Walker N.J., *Induction of lung lesions in female rats following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*, Toxicol Pathol, 2000, **28**:761-769.

SUMMARY

CYTOGENETIC STATUS INVESTIGATION AMONG TWO MALE GROUPS FROM VILLAGES WITH DIFFERENT ECOTOXICOLOGICAL SITUATION

Human epidemiological and clinical studies demonstrated development of dioxin pathology among population living in the ecocide area - territory sprayed with Agent Orange almost 40 years ago. Strengthening of destructive processes' effects in mucous epithelial cells (membranes) among residents of dioxin-contaminated territory indicated obvious changes in regulation of cell cycle and apoptosis, and in situation of population chronic exposure to low doses of dioxins this could modify systemic effects and affect the health and reactivity.

Ключевые слова: цитогенетический статус, микроядра, двуядерные клетки, апоптоз, буккальный эпителий, назальный эпителий, диоксины, экотоксикологическая ситуация.

Nhận bài ngày 19 tháng 5 năm 2016

Hoàn thiện ngày 12 tháng 6 năm 2016

⁽¹⁾ *Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, РФ*

⁽²⁾ *Институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина, Москва, РФ*

⁽³⁾ *Российско-Вьетнамский Тропический центр, Ханой, СРВ*