

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГЕНОМА У ПЕРСОНАЛА ПРЕДПРИЯТИЯ
«ХИМЗАВОД» И НАСЕЛЕНИЯ, ПРОЖИВАЮЩЕГО В РАЙОНЕ
ЕГО РАСПОЛОЖЕНИЯ**

¹Томилин Н. В., ²Комбарова М. Ю., ¹Филько О. А., ¹Храброва А. В., ³Трикман О. П.,
³Скрипкина Л. Е., ³Горячева Е. А.

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства»*

192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1

телефон/факс: (812) 365-06-80

e-mail: Nikolay_Tomilin@rambler.ru

²*Федеральное государственное унитарное предприятие*

«Научно исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства»

188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово

³*Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения*

«Клиническая больница №51»

Федерального медико-биологического агентства

662971, Красноярский край, г. Железногорск, ул. Кирова, д.5

Резюме.

Профессиональная деятельность персонала предприятия «Химзавод», выполняющего утилизацию ракетных двигателей на жидком топливе, представляет опасность загрязнения компонентами ракетного топлива (КРТ) объектов производственной среды предприятия «Химзавод» и окружающей его территории. Наиболее токсичными загрязняющими факторами являются основной компонент КРТ – 1,1-диметилгидразин (гептил, несимметричный диметилгидразин – НДМГ), и нитрозодиметиламин (НДМА), продукт распада НДМГ под действием кислорода и влаги в окружающем воздухе.

Цель работы. Оценка состояния генома у персонала предприятия «Химзавод» и населения в районе его расположения.

Материалы и методы. Объектами настоящего исследования были лейкоциты крови человека.

Для оценки нестабильности генома использовали два биомаркера:

– Первичные повреждения ДНК (одиночные, двойные разрывы и АП-сайты), определяемые с помощью метода ДНК-комет в лейкоцитах периферической крови.

– Мутации (хромосомные aberrации и анеуплоидия), определяемые в культуре лимфоцитов с цитокинетическим блоком.

С помощью третьего биомаркера (индекс пролиферации лимфоцитов – ИП) регистрировали цитотоксическое действие КРТ.

Были сформированы две группы персонала предприятия «Химзавод»: имеющие прямой контакт с КРТ и не работающие с КРТ, а также две группы населения: проживающие в пос. Подгорный и в г. Железнодорожск.

Результаты. Было установлено, что степень первичных повреждений ядерной ДНК лейкоцитов и частота встречаемости микроядер в двуядерных лимфоцитах во всех обследованных группах не отличается друг от друга. Это свидетельствует об отсутствии нарушений стабильности генома у персонала предприятия «Химзавод» и у населения, проживающего в г. Железнодорожск и пос. Подгорный.

Индекс пролиферации в культуре лимфоцитов у населения пос. Подгорный достоверно выше, чем у населения г. Железнодорожск, что свидетельствует о благоприятной экологической обстановке в районе расположения предприятия «Химзавод».

При сравнении величин ИП лимфоцитов населения пос. Подгорный и персонала предприятия «Химзавод» было получено статистически значимое снижение пролиферативной активности лимфоцитов в группе персонала, контактирующего с КРТ. Величина ИП лимфоцитов у персонала, не работающего с КРТ, имело промежуточное значение. Кроме этого в группе персонала предприятия «Химзавод», имеющего контакт с КРТ, была обнаружена высокая степень корреляции величины ИП лимфоцитов со стажем работы. Коэффициент корреляции Пирсона был равен $-0,567$ ($p = 0,027$).

По полученным данным ИП лимфоцитов в группе населения пос. Подгорный был рассчитан референтный интервал нормы. Его величина для этого региона составила $1,60 - 1,88$. При сравнении с референтным интервалом нормы ИП лимфоцитов у персонала предприятия «Химзавод», контактирующего с КРТ, выявлено два случая уменьшения ИП лимфоцитов ниже нормы ($1,59$ и $1,51$).

Заключение. На основании полученных результатов можно сделать заключение об отсутствии нарушений стабильности генома у персонала предприятия «Химзавод» и населения, проживающего в районе его расположения.

В группе работников предприятия «Химзавод», связанных с утилизацией ракет с жидким топливом, было обнаружено снижение индекса пролиферации лимфоцитов, что свидетельствует о токсическом действии 1,1-диметилгидразина (гептила).

Ключевые слова: мониторинг, компоненты ракетного топлива, лейкоциты, генотоксичность, цитотоксичность, метод ДНК-комет, микроядерный тест.

**ASSESSMENT OF GENOME STABILITY AT THE PERSONNEL
OF PLANT “Khimzavod” AND THE POPULATION
IN AN AREA OF ITS LOCATION**

¹Tomilin N. V., ²Kombarova M. U., ¹Filko O. A., ¹Khrabrova A. V., ³Trikman O. P.,

³Skripkina L. E., ³Goryacheva E. A.

¹*“Institute of Toxicology” of Federal Medico-Biological Agency
St. -Petersburg, Russia, 192019, ul. Bekhtereva, 1 Tel. (812) 365-06-80,
e-mail: Nikolay_Tomilin@rambler.ru,*

²*“Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology”
of Federal Medico-Biological Agency*

³*«Clinical hospital №51» of Federal Medico-Biological Agency*

Abstract

Professional activity of the personnel of “Khimzavod” plant, which performs disposal of liquid-fuel rocket engines, is a danger of contamination by rocket fuel components (RFC) of the objects of production environment of “Khimzavod” plant and the surrounding territory. The most toxic pollutants are the main RFC – 1.1-dimethylhydrazine (heptyl, unsymmetrical dimethylhydrazine – UDMH), and nitrosodimethylamine (NDMA), a product of decomposition of UDMH under the influence of oxygen and moisture in the surrounding air.

Aim of the study. The purpose of this study was to assess the genome stability of “Khimzavod” personnel and the population in an area of its

Materials and methods. The subjects of this study were human white blood cells. Two biomarkers were used to assess genome instability:

- Primary DNA damage (single breaks, double breaks, and AP sites) determined by Comet assay.
- Mutations (chromosomal aberrations and aneuploidy) determined in the culture of lymphocytes with cytokinetic block.

The third biomarker (index of proliferation – IP) was allowed to register the cytotoxic action of RFC.

Two groups of “Khimzavod” personnel were formed: those who had direct contact with RFC and did not work with RFC, as well as two groups of people living in Podgorny and Zheleznogorsk.

Results. It was found that the degree of primary damage to the nuclear DNA of leukocytes and the frequency of occurrence of micronuclei in dual nucleus lymphocytes in all groups studied did not differ from each other. This indicates the absence of genome stability

disorders in the personnel of the “Khimzavod” plant and in the population living in Zheleznogorsk and Podgorny settlement.

The index of proliferation in the lymphocyte culture in the population of Podgorny settlement is significantly higher than in the population of Zheleznogorsk, which indicates a more favorable environmental situation in the area of the plant “Khimzavod”.

When comparing the values of IP lymphocytes of the population of Podgorny settlement with the personnel of the plant “Khimzavod”, a statistically significant decrease in the proliferative activity of lymphocytes in the group of personnel in contact with RFC was obtained. The value of PI of lymphocytes in the personnel who do not work with RFC, occupied an intermediate value. Besides, in the group of personnel of “Khimzavod” enterprise who had contact with RFC, a high degree of correlation between the value of IP of lymphocytes and length of service was found. The Pearson correlation coefficient was -0.567 ($p = 0.027$).

Based on the obtained data of IP lymphocytes in the Podgorny settlement group, the reference interval of the norm was calculated. Its value for this region was $1.60 - 1.88$. When comparing with the reference interval of the norm of IP of lymphocytes calculated for the group of population of Podgorny settlement, two cases of reduction of IP of lymphocytes below the norm were revealed among the personnel of the plant “Khimzavod” contacting with RFC (1.59 and 1.51).

Conclusions. Thus, on the basis of the obtained results it is possible to draw a conclusion about the absence of genome stability disorders at the personnel of plant “Khimzavod” and the population in an area of its location.

In the group of personnel of “Khimzavod” enterprise associated with the disposal of liquid-fuel rockets, a decrease in the proliferation index of lymphocytes was found, which indicates the toxic effect of 1,1-dimethylhydrazine (heptyl).

Keywords: monitoring, rocket fuel components, leukocytes, genotoxicity, cytotoxicity, Comet assay, micronucleus test.

ВВЕДЕНИЕ

Основной задачей данного исследования была оценка состояния генома персонала предприятия «Химзавод» и населения, проживающего в районе его расположения, с помощью метода ДНК-комет на лейкоцитах и микроядерного теста на культуре лимфоцитов с цитокинетическим блоком.

Профессиональная деятельность персонала предприятия «Химзавод» связана с действием загрязнений компонентами ракетного топлива (КРТ) объектов производственной среды предприятия «Химзавод» и окружающей его территории. В качестве наиболее вероятных загрязняющих факторов рассматривали основной компонент ракетного топлива – 1,1-диметилгидразин (гептил, несимметричный диметилгидразин – НДМГ), и нитрозодиметиламин (НДМА), обычно в небольшом количестве содержащийся в ракетном топливе.

НДМГ – высокотоксичное химическое вещество (1-й класс опасности) и возможный канцероген (группа 2В) для человека [1].

Известно, что НДМГ распадается под действием света, влаги и кислорода атмосферного воздуха с образованием диметиламина, тетраметилтетразена, НДМА и формальдегида [2, 3]. Поэтому в реальных условиях НДМГ всегда содержит некоторое количество НДМА, что необходимо учитывать при выполнении мониторинга стабильности генома у персонала, профессионально связанного с КРТ. К тому же НДМА используется в качестве промежуточного реагента для промышленного синтеза НДМГ. Это генотоксикант непрямого действия, который требует метаболической активации цитохром Р450-зависимыми монооксигеназами (преимущественно СYP2E1) в печени млекопитающих [4]. Поэтому в качестве второго вероятного загрязняющего фактора рассматривали НДМА.

В качестве первого биомаркера эффекта для оценки нестабильности генома использовали количество первичных повреждений ядерной ДНК в лейкоцитах периферической крови – АП-сайты и одно-, двуспиральные разрывы молекулы ДНК, определяемые с помощью метода щелочного гель-электрофореза (метод ДНК-комет) [5].

Для регистрации нерепарированных повреждений (мутаций) в качестве второго биомаркера определяли частоту кластогенных и анеуплоидных мутаций с помощью микроядерного теста на культуре лимфоцитов с цитокинетическим блоком.

Третьим биомаркером служила пролиферативная активность лимфоцитов в культуре с цитокинетическим блоком. Индекс пролиферации лимфоцитов рассчитывали как отношение содержания двуйдерных лимфоцитов к общему количеству клеток

(одноядерных, двуядерных, трехъядерных и четырехъядерных) в культуре лимфоцитов. Снижение величины этого параметра свидетельствует о цитотоксическом действии ксенобиотиков. Высокая чувствительность этого параметра является одним из преимуществ этого метода перед методом оценки состояния генома с помощью учета хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов [6, 7].

Подобный эффект действия НДМГ ранее был показан на культуре лимфоцитов после стимуляции конканавалином А. В этом же исследовании была обнаружена гибель лимфоцитов в культуре при высоких дозах НДМГ без дополнительной стимуляции митогеном и в отсутствии микросомальной фракции печени [8]. Отсюда можно предположить, что НДМГ не требует метаболической трансформации, хотя, конечно, и в этом случае нельзя исключить образования примесей НДМА.

Оценка пролиферативной активности лимфоцитов в культуре после стимуляции митогенами конканавалином А и ФГА широко используется для изучения иммунотоксического действия веществ (метод бласттрансформации лимфоцитов) [9, 10], что позволяет считать снижение пролиферации лимфоцитов в культуре с цитокинетическим блоком под действием НДМГ проявлением его иммунотоксичности.

С учетом удаленности объекта для выполнения мониторинговых исследований стабильности генома была дополнительно разработана методика сохранения проб крови, позволившая выполнять отсроченный анализ в оборудованной для этих исследований лаборатории [11].

Материалы и методы

Формирование групп для оценки состояния генома у персонала предприятия «Химзавод» и у населения, проживающего в районе его расположения

Для мониторинга состояния генома у персонала предприятия «Химзавод» и у населения, проживающего в районе его расположения, были сформированы 4 группы.

Первая и вторая группы были образованы из персонала предприятия, имеющего контакт с КРТ, и персонала, не имеющего такого контакта, соответственно.

Участники третьей и четвертой группы представляли собой население, проживающего в районе предприятия «Химзавод» (в пос. Подгорный), и население г. Железнодорожск, соответственно.

Каждая группа содержала не менее 12 участников. Составы групп были близки по возрасту, гендерному составу и соотношению курящих и некурящих.

Взятие проб крови

Венозную кровь (6 мл) собирали в специальные пробирки для забора крови с литиевым гепарином.

Сохранение проб крови методом замораживания

В маркированные стерильные криопробирки объемом 1,5 мл добавляли по 0,9 мл свежей крови и 0,1 мл ДМСО.

После тщательного перемешивания криопробирки помещали в специальные контейнеры для поддержания постоянной скорости замораживания $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Затем контейнеры с криопробирками ставили на ночь в термokonтейнеры, заполненные сухим льдом ($-78,5^{\circ}\text{C}$). На следующий день криопробирки с замороженными пробами перемещали в термokonтейнеры с сухим льдом для транспортировки в лабораторию Института токсикологии в Санкт-Петербурге для анализа.

Получение препаратов для исследования величины повреждения ядерной ДНК лейкоцитов с помощью метода ДНК-комет

Пробы крови размораживали на водяной бане при температуре 37°C в течение 5 мин.

Для метода ДНК-комет препараты готовили следующим образом: из каждой пробы крови брали аликвоту 10 мкл, которую смешивали со 150 мкл расплавленной агарозы с низкой точкой гелеобразования. Затем аликвоту объемом 30 мкл помещали на предварительно покрытые рутинной агарозой предметные стекла. Немедленно накрывали покровным стеклом и помещали в холодильник для затвердевания агарозы. Через 15 мин покровные стекла удаляли, препараты погружали в раствор с высокой концентрацией соли (2,5 моль/л NaCl, 100 ммоль/л Na_2 -ЭДТА, 1%-ный тритон X 100, 10%-ный ДМСО, 10 ммоль/л трис, pH 10,0–10,5) для лизиса содержимого клеток и освобождения ДНК. После двух часов лизиса при $t = +4^{\circ}\text{C}$ препараты укладывали в камеру для горизонтального электрофореза, заполненную щелочным раствором (300 ммоль/л NaOH, 10 ммоль/л Na_2 -EDTA, pH > 13).

На этом этапе двуспиральные молекулы ДНК денатурировали в течение 30 мин, превращаясь в односпиральные нити, что высвобождало ранее фрагментированные участки. Одновременно АП-сайты трансформировались в одиночные разрывы. В ходе последующего электрофореза (300 мА, 1 В/см, в течение 30 мин) фрагменты ДНК мигрировали к аноду с той или иной скоростью, зависящей от величины фрагмента, образуя структуру, напоминающую хвост кометы. Такие структуры видны под флуоресцентным микроскопом после окраски бромистым этидием.

Окрашенные структуры формируют ярко светящееся округлое образование (нуклеоид), от которого в сторону анода вытягивается хвост, состоящий из фрагментированной ДНК. Относительную интенсивность свечения хвоста по отношению к суммарной интенсивности свечения нуклеоида и хвоста использовали в качестве

индекса степени повреждения ДНК (% ДНК в хвосте). Значения данного параметра определяли с помощью специальной компьютерной программы Comet assay IV. Из каждой пробы изготавливали два препарата. В каждом препарате оценивали относительное содержание ДНК в хвосте кометы не менее чем в 50 нуклеоидах. Для каждого препарата рассчитывали среднюю величину повреждения ядерной ДНК, затем получали среднюю степень повреждения ДНК для каждой пробы.

Количество комет с высокой степенью повреждения (hedgehogs – ежеиков), которые не могли быть проанализированы с помощью программы, подсчитывали отдельно, их относительное содержание приведено в таблицах.

Получение препаратов культуры лимфоцитов с двуядерными клетками в условиях цитокинетического блока

1 мл размороженной крови переносили в стерильную центрифужную пробирку объемом 15 мл и добавляли 4 мл раствора Хенкса. Клетки осаждали центрифугированием при скорости 1000 об/мин в течение 5 мин. Осадок ресуспензировали в 1 мл культуральной среды, содержащей среду RPMI-1640 с глутамином и гентамицином (10 мкг/мл), 20% эмбриональной телячьей сыворотки и 8 мкг/мл ФГА П.

В стерильную пробирку объемом 16 мл с 5 мл культуральной среды добавляли по 0,5 мл отмытой крови. Для каждой пробы крови готовили по две пробирки.

Затем пробирки помещали в CO₂-инкубатор при температуре 37° С и 5 % CO₂. Через 44 ч инкубации в каждую пробирку добавляли цитохалазин Б до конечной концентрации 6 мкг/мл и дополнительно инкубировали в течение 24 ч.

Общее время инкубации после добавления пробы крови составляло 68 ч.

После завершения инкубации пробы переносили в центрифужные пробирки объемом 15 мл и центрифугировали при температуре 25° С в течение 10 мин при скорости 1000 об/мин. Супернатант аккуратно удаляли, а клетки ресуспензировали в 5 мл 0,56%-ного хлористого калия и помещали в холодильник на 15 мин. Затем в каждую пробирку по капельно, с постоянным встряхиванием добавляли 5–8 капель холодного метанол-уксусного фиксатора (3:1), а через две минуты еще 2 мл фиксатора. Время фиксации составляло 10 мин.

Пробы снова центрифугировали, осадок ресуспензировали в 5 мл холодного свежего фиксатора. Фиксацию выполняли трижды.

После окончания последней фиксации супернатант удаляли не полностью. В пробирке оставляли около 30–50 мкл холодного фиксатора в зависимости от количества осадка, который затем аккуратно ресуспензировали.

Аликвоты суспензии зафиксированных клеток (15 мкл) раскапывали на охлажденные предметные стекла с высоты 25–30 см.

Полученные препараты окрашивали 3%-ным красителем Гимзы в буфере HEPES (0,03 моль/л; pH=6,5) в течение 20 мин, с последующим быстрым ополаскиванием в дистиллированной воде. Затем препараты высушивали, заключали в заливочную среду и покрывали покровными стеклами.

Определение относительного содержания двуядерных лимфоцитов с микроядрами

Микроядра были морфологически идентичны ядрам клеток. К микроядрам относили структуры, составляющие от 1/3 до 1/16 диаметра основного ядра. Структуры большего диаметра считали как добавочные ядра [12].

Относительное содержание двуядерных лимфоцитов с микроядрами определяли после анализа не менее 1000 клеток.

Определение индекса пролиферации лимфоцитов

Индекс пролиферации (ИП) рассчитывали по формуле [13]:

$$\text{ИП} = (M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4)/N,$$

где M₁, M₂, M₃, и M₄ – количество одно-, двух-, трех и четырехъядерных лимфоцитов соответственно; N – общее количество лимфоцитов после анализа не менее 500 клеток.

Статистический анализ результатов

Статистический анализ данных, полученных с помощью метода ДНК-комет и микроядерного теста, выполняли с помощью методов непараметрической статистики (теста Манн-Уитни и критерия корреляции Спирмана).

Для анализа изменений величин ИП лимфоцитов применяли t-критерий Стьюдента и критерий корреляции Пирсона. Референтный интервал рассчитывали по следующей формуле: среднее значение $\pm 1,96 \times$ стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Состояние генома у населения пос. Подгорный и г. Железногорск

Данные, полученные в результате исследований степени первичных повреждений ядерной ДНК лейкоцитов (метод ДНК-комет) и частоты встречаемости микроядер в двуядерных лимфоцитах (микроядерный тест с цитокинетическим блоком), свидетельствуют об отсутствии различий в состоянии генома у населения в этих двух регионах (таблица 1).

Таблица 1. Степень первичного повреждения ядерной ДНК лейкоцитов, содержание двуядерных лимфоцитов с микроядрами и ИП лимфоцитов в группах населения г. Железнодорожск и пос. Подгорный

Группы	Возраст, лет	Метод ДНК комет		Микроядерный тест	
		Содержание ДНК в хвосте, %	Hedgehogs (ежики), %	Двуядерные лимфоциты с МЯ, %	Индекс пролиферации
Население г. Железнодорожск	46,1±0,8	7,23±0,48	4,2±0,6	1,2±0,2	1,68±0,02
Население пос. Подгорный	52,2±3,2	8,28±0,45	6,7±1,2	1,0±0,1	1,74±0,02*
Примечание – * – $p < 0,05$, критерий t -Стьюдента; здесь и в других таблицах МЯ – микроядра					

Высокий ИП лимфоцитов, обнаруженный у населения в пос. Подгорный, свидетельствует о более благоприятной экологической обстановке в этом регионе по сравнению с г. Железнодорожск, где, по-видимому, повышено содержание токсичных загрязнений, не имеющих генотоксического действия.

Состояние генома у персонала предприятия «Химзавод»

После сравнения степени первичных повреждений ядерной ДНК лейкоцитов, частоты встречаемости микроядер в двуядерных лимфоцитах и ИП лимфоцитов между двумя группами персонала предприятия «Химзавод», имеющих и не имеющих контакта с КРТ, не выявлено достоверных различий (таблица 2). Это свидетельствует об отсутствии нарушений стабильности генома.

Важно отметить следующее: в отсутствие достоверных различий между ИП лимфоцитов в обеих группах персонала, имеющего контакт с КРТ, была обнаружена статистически достоверная корреляция величины ИП лимфоцитов со стажем работы сотрудников. Коэффициент корреляции Пирсона был равен – 0,567 ($p = 0,027$).

Таблица 2. Степень первичного повреждения ядерной ДНК лейкоцитов, содержания двуядерных лимфоцитов с микроядрами и ИП лимфоцитов в культуре в группах персонала предприятия «Химзавод»

Группы	Возраст, лет	Стаж, лет	Метод ДНК комет		Микроядерный тест	
			ДНК в хвосте, %	Hedgehogs (ежики), %	Двуядерные лимфоциты с МЯ, %	Индекс пролиферации
Без контакта с КРТ	50,2±3,5	19,1±4,3	8,16±0,57	6,0±1,3	1,3±0,2	1,71±0,02
Контакт с КРТ	39,5±2,8	16,3±3,1	7,62±0,98	6,7±1,2	0,9±0,2	1,68±0,02

Для углубленного анализа полученных результатов был рассчитан референтный интервал нормы ИП лимфоцитов по данным в группе населения пос. Подгорный. Его величина для этого региона составила 1,60 – 1,88.

В группе персонала предприятия «Химзавод», имеющего контакт с КРТ, выявлены два участника обследования, у которых ИП лимфоцитов был ниже рассчитанного референтного интервала (1,59 и 1,51).

С учетом проживания персонала предприятия «Химзавод» в пос. Подгорный выполнено сравнение ИП лимфоцитов группы населения пос. Подгорный и групп персонала предприятия «Химзавод». Зарегистрировано достоверное снижение ИП лимфоцитов в группе персонала, имеющего контакт с КРТ: $1,68 \pm 0,02$ (таблица 2) по отношению к группе населения пос. Подгорный $1,74 \pm 0,02$ (таблица 1), $p < 0,05$. Значение ИП лимфоцитов в группе работников предприятия «Химзавод», не имеющих контакта с КРТ, также было ниже величины ИП лимфоцитов в группе населения пос. Подгорный, но различия были недостоверными.

Ранее в экспериментальных исследованиях на белых крысах нами было показано, что НДМГ не вызывает нарушений стабильности генома, но проявляет цитотоксическое действие, которое выражается в снижении ИП лимфоцитов [14]. Генотоксическое действие НДМГ проявлялось только в случаях образования достаточной концентрации НДМА в результате распада НДМГ под действием света и кислорода окружающего воздуха [15].

Таким образом, из полученных результатов можно сделать вывод о токсическом действии НДМГ на лимфоциты периферической крови работников предприятия «Химзавод», непосредственно контактирующих с КРТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для выполнения исследований состояния генома у персонала предприятия «Химзавод» и населения, проживающего в районе его расположения, были сформированы четыре группы: персонала, имеющего прямой контакт с компонентами КРТ и не работающего с КРТ, а также две группы населения, проживающего в пос. Подгорный и в г. Железнодорожск.

Не выявлено достоверных отличий состояния генома, определенного по величине первичных повреждений ДНК и частоте встречаемости микроядер в двуядерных лимфоцитах, во всех группах обследованных.

Установлено, что ИП лимфоцитов в крови у населения пос. Подгорный достоверно выше, чем у населения г. Железнодорожск, что свидетельствует о более благоприятной экологической обстановке в районе расположения предприятия «Химзавод».

В группе персонала предприятия «Химзавод», имевшего контакт с КРТ, обнаружена высокая степень отрицательной корреляции ИП лимфоцитов со стажем работы сотрудников. При сравнении с референтным интервалом нормы, рассчитанным по группе населения пос. Подгорный, были выявлены два случая, выходящих за нижний предел нормы.

После сравнения ИП лимфоцитов у населения пос. Подгорный и персонала предприятия «Химзавод», контактирующего с КРТ и проживающего в пос. Подгорный, обнаружено достоверное снижение значений этого параметра в группе персонала, что свидетельствует о токсическом действии гептила на лимфоциты периферической крови.

Таким образом, можно сделать следующее заключение:

- 1) экологическая обстановка в районе расположения предприятия «Химзавод» благоприятнее, чем в г. Железнодорожск;
- 2) не обнаружено генотоксического воздействия на состояние генома у персонала предприятия «Химзавод» и населения, проживающего в районе его расположения;
- 3) выявлено токсическое действие НДМГ на лимфоциты периферической крови у персонала предприятия «Химзавод», непосредственно контактирующего с КРТ.

Литература

- 1 1,1-Dimethylhydrazine // IARC Monographs. Vol. 71. On the evaluation of carcinogenic risks to humans. – Lyon, 1999. – P. 1425-1436.
- 2 Пособие по токсикологии, гигиене, химии, индикации, клинике, диагностике острых и хронических интоксикаций и профилактике профессиональных заболеваний при работе с несимметричным диметилгидразином / Под общей редакцией. М. Ф. Киселева, В. Р. Рембовского, В. В. Романова; СПб., 2009. – 249 с.
- 3 Смоленков А. Д., Родин И. А., Смирнов И. А., Татаурова О. Г., Шпигун О. А. Применение ионной и ион-парной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения несимметричного диметилгидразина и продуктов его трансформации // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2012. – Т. 53 (5). – С. 312-319.
- 4 Haggerty H. G., Holsapple M. P. Role of metabolism in dimethylnitrosamine-induced immunosuppression: a review // Toxicology. – 1990. – Vol. 63 (1). – P. 1-23.
- 5 Н. В. Томилин, О. А. Филько, А. В. Храброва, Н. Е. Соловьева, К. В. Сизова, К. А. Краснов, В. А. Утсаль. Оценка величины повреждений ядерной ДНК в клетках периферической крови человека с помощью щелочного гель-электрофореза и микроядерного теста при медицинских обследованиях работников, связанных с воздействием вредных химических факторов (гидразинов) // МР 12.06-18, Москва. – 2018. – 31 с.
- 6 Харченко Т. В., Аржавкина Л. Г., Язенок А.В., Д.И. Синячкин, Жекалов А.Н. Генотоксические изменения у персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия // Токсикологический вестник – 2016. – Т.138 – № 3. – С. 36-40.
- 7 Харченко Т. В., Аржавкина Л. Г., Иванов М. Б., Язенок А. В., Говердовский Ю. Б., Крючкова А. С., Синячкин Д. А., Сосюкин А. Е. Цитогенетическое обследование работников предприятий повышенной химической опасности и населения близлежащих территорий // Гигиена и санитария. – 2011. – № 5. – С. 42-44.
- 8 Frazier D. E., Tarr M. E., Olsen R. G. The in vitro and in vivo effects of 1,1-dimethylhydrazine (UDMH) on murine lymphocyte subsets and IA antigen expression // Immunoparm. Immunotox. – 1991. – Vol. 13 (1-2). – P. 25-46
- 9 Булычева Т. И., Дейненко Н. Л., Григорьев А. А. Иммуноцитохимическая оценка стимуляции лимфоцитов фитогемагглютинином реакции бласттрансформации лимфоцитов с моноклональными антителами Ki-67 // Клиническая лабораторная диагностика – 2014. - № 7. – С. 51-55.

10 Bauer R. M, Tarr M. J., Olsen R. G. Effect of 1,1-dimethylhydrazine on lymphoproliferation and interleukin 2 immunoregulatory function // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1990. – Vol. 19. – P. 148-153.

11 Cheng L., Wang L.E., Spitz M.R., Wei Q. Cryopreserving whole blood for functional assays using viable lymphocytes in molecular epidemiology studies // Cancer Let. – 2001. – Vol. 166. – P. 155-163.

12 Fenech M., Crott J., Turner J., Brown S. Necrosis, apoptosis, cytostasis and DNA damage in human lymphocytes measured simultaneously within the cytokinesis-block micronucleus assay: description of the method and results for hydrogen peroxide // Mutagenesis. – 1999. – Vol. 14 (6). – P. 605-612.

13 Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay // Nat. Protoc. – 2007. – Vol. 2 (5). – P. 1084-1104.

14 Томилин Н. В., Филько О. А., Храброва А. В., , Соловьева Н. Е., Утсаль В. А., К. А. Краснов Генотоксическое и цитотоксическое действие несимметричного диметилгидразина при остром и субхроническом введении // Современные вопросы биомедицины – 2018. – Т 2(4). – С. 178-175.

15 Томилин Н. В., Филько О. А., Храброва А. В., Соловьева Н. Е., Сизова К. В., Утсаль В.А., Краснов К.А. Сравнительное экспериментальное исследование мутагенного и цитотоксического действия нитрозодиметиламина в условиях острого и субхронического введения с помощью микроядерного теста на ретикулоцитах и лимфоцитах периферической белых крыс // Биомед. журнал. Medline. ru – 2017. – Т. 18. – С. 382-394.