

Оценка противогенотоксической эффективности комплекса биопротекторов при действии хризотил-асбеста

Сутункова М.П., научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФГУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург Береснева О.Ю., к.б.н., доцент кафедры гистологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург Makeev O.G., д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и медицинской генетики ГОУ ВПО УГМА Росздрава г. Екатеринбург

The evaluation of the anti-genotoxic effectiveness of a complex of bioprotectors under chrysotile asbestos exposure

Sutunkova M.P., Beresneva O.Yu., Makeev O.G.

Резюме

На фоне влияния комплекса биопротекторов показано ослабление мутагенного действия в микроядерном тесте (МЯТ) на клетках костного мозга у линейных мышей при внутрибрюшинном введении хризотил-асбеста, а также после проведения контролируемого курса биопрофилактики на основе того же комплекса у детей, проживающих в г. Асбесте, по данным МЯТ на клетках буккального эпителия, а также по снижению коэффициента фрагментации ДНК лейкоцитов крови. Эти эффекты могут рассматриваться как свидетельствующие о вероятном противоканцерогенном действии испытанной биологической профилактики.

Ключевые слова: биопротекторы, хризотил-асбест, мутагенность

Summary

On the background of the influence of bio-protective complex, it is shown the weakening of mutagenic effect estimated has been demonstrated in a micronuclear assay on the bone marrow cell of linear mice after intraperitoneal injection of chrysotile asbestos. It was demonstrated also that administration of this complex in children influenced beneficially the lipoperoxidation and cytogenetic index in cells of buccal mucosa and DNA fragmentation in blood leucocytes. These effects may be considered as an evidence for a probable anticancerogenic action of the tested biological prophylaxis.

Key words: bioprotectors, chrysotile asbestos, mutagenic effect

Аэрогенному воздействию хризотила-асбеста (ХА) подвержены не только работники промышленности, но и население за счет широкого применения в строительстве жилых и общественных зданий рыхлых либо легко крошащихся асбестосодержащих материалов, истирания колодок автотранспорта, а также атмосферных выбросов асбестообогащенных и применяющих асбест предприятий. Потенциальная опасность воздействия асбеста на организм особенно высока для здоровья и развития детского населения. Детей отличают некоторые анатомо-физиологические характеристики, в связи с которыми повышается их пылевая нагрузка по сравнению с взрослыми в равных условиях загрязнения окружающей среды.

Особую озабоченность вызывает канцерогенное действие ХА. Доказательства его канцерогенности при вдыхании были признаны Международным агентством

по изучению рака убедительными, и с 1977 г. все без исключения виды асбеста признаны канцерогенами группы 1, т.е. безусловными канцерогенами человека. Такой же оценка канцерогенности ХА остается и по сей день [1]. В связи с этим оказывается актуальной задача повышения резистентности организма к канцерогенному действию ХА.

Механизмы канцерогенного действия асбеста все еще служат предметом дискуссии. Одним из них многими авторами признается его генотоксичность (мутагенность), то есть асбест рассматривается как инициатор канцерогенеза. Согласно обзору литературы, приводимому International programme on chemical safety (1998), генотоксичность асбеста может быть связана не только с прямым влиянием на ДНК, но и с образованием активных кислородных радикалов [1]. При воздействии волокон на клетки в последних происходит так называемый кислородный взрыв, ведущий к резкому увеличению количества активных радикалов кислорода, которые вызывают в клетках-мишенях "окислительный стресс", ведущий, в частности, к нарушениям в их генетическом аппарате.

Активные радикалы играют важную роль в инициации и нарушениях многих сигнальных путей, секреции

Ответственный за ведение переписки -
Сутункова Мария Петровна,
620014, г. Екатеринбург, ул. Попова, 30,
тел. 8 (343) 341-20-84,
E-mail: marinasutunkova@yandex.ru

различных медиаторов роста, цитокинов, в пролиферации и апоптозе клеток, они вызывают нарушение синтеза ДНК, ее целостность и репарацию, а также точечные мутации. Активным кислородным радикалам, прежде всего OH^- радикалу, а также продуктам перекисного окисления липидов, отводится в настоящее время главенствующая роль в механизме канцерогенного действия ХА.

На протяжении многих лет сотрудниками отдела токсикологии и биофилактики ФГУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора под руководством профессора Б.А. Кашельсона осуществляются: теоретическая разработка, экспериментальное моделирование, контролируемое испытание и широкое внедрение в практику методов так называемой биологической профилактики. Под последней понимается комплексное воздействие на организм, направленное на повышение его резистентности к вредному действию загрязнителей производственной среды и среды обитания [2, 3]. В испытуемый комплекс биопротекторов по отношению к вредным эффектам ХА были включены: активный метаболит цикла Кребса – глутаминовая кислота как стабилизатор клеточных мембран; йод как стимулятор биоэнергетических процессов клетки, отчасти опосредованных через гормональную функцию щитовидной железы, антиоксиданты (витамины А, Е, С, микроэлемент – селен, аминокислота метионин), от включения которых в умеренных дозировках в состав биофилактического комплекса (БПК) можно ожидать не только потенцирования антицитотоксического-антифиброгенного действия при асбестозе, но и антимуtagenного (а прогностически – антиканцерогенного) эффекта. Все из перечисленных средств, входящих в состав БПК, допущены к применению Министерством здравоохранения и социального развития России для широкого применения в детском возрасте и являются безвредными при длительном применении в профилактических дозах.

Оценка антимуtagenной эффективности БПК проводилась при помощи микроядерного теста на клетках костного мозга мышей линии Black на специально созданной модели мутагенного действия хризотил-асбеста [4]. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями "Правил проведения работ с использо-

ванным экспериментальных животных" (Приложение к Приказу Минздрава СССР № 755от 12.08.1977 г.).

Оценка эффективности экспериментально апробированного БПК была проведена на двух группах детей (по 50 детей в каждой) на базе дошкольных образовательных учреждений, расположенных в зоне техногенного загрязнения, в том числе и хризотилом (юго-западный район г. Асбеста), с информированного согласия родителей и под врачебным наблюдением. При выборе наиболее неблагоприятных территорий использовались результаты оценки многоуровневого риска для здоровья населения г. Асбеста, выполненные Уральским региональным центром экологической эпидемиологии в 2007 г. Основная группа детей получила курс биофилактики, контрольная принимала глюкозу с витамином С в таблетках. Для оценки антиканцерогенной эффективности БПК в контролируемом курсе использовали:

- микроядерный тест на клетках слизистой полости рта [4];
- тестирование повреждения и репарации ДНК методом анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов в лейкоцитах крови [5, 6].

Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 6.0, по U-критерию Манна-Уитни, Стьюдента и Фишера; выбор критерия осуществлялся исходя из типа статистического распределения данных.

Как показали результаты эксперимента (рисунок 1), при создании модели мутагенного действия ХА число микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга мышей статистически значимо увеличилось в 2,3 раза в группе ХА по сравнению с интактным контролем. Предварительное (в течение 20 дней до введения асбеста) воздействие БПК статистически значимо (при $p < 0,05$ по критерию Фишера) снижает этот мутагенный эффект.

Как видно из таблицы 1, у детей после приема биофилактического комплекса произошло снижение общего цитогенетического показателя. В контрольной группе детей, не получавшей БПК, напротив, отмечено увеличение общего цитогенетического показателя.

При анализе полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (таблица 2) у детей, принимавших БПК, происходило достоверное снижение коэффициента фрагментации ДНК лейкоцитов крови. В контрольной группе снижение коэффициента фрагментации было статистически не значимым.

Уменьшение цитогенетических нарушений в клетках косвенно свидетельствует о снижении риска канцерогенеза, что, вероятно, связано с торможением БПК свободнорадикальных процессов антиоксидантами, входящими в состав БПК (жиро- и водорастворимые витамины, микроэлементы и аминокислоты), которые приводят к предотвращению образования OH^- радикала, ингибированию звеньев перекисного окисления липидов, активации ферментов собственной антирадикальной защиты.

Кроме того, в эксперименте при интратрахеальном введении ХА крысам, было показано статистически значимое снижение фиброгенного и цитотоксического действия [7]. Прием этого комплекса детьми существенно



Рис. 1. Эффективность антимуtagenного действия БПК, в микроядерном тесте на клетках костного мозга

Таблица 1. Оценка антимутагенного действия БПК в микроядерном тесте на клетках буккального эпителия

Показатель	БПК		Контроль	
	до	после	до	после
Общий цитогенетический показатель	1,22±0,27	0,78±0,17 *	0,47±0,17	0,80±0,17

Примечание: * – изменение статистически значимо по критерию Фишера в сравнении с результатами до проведения биопротективного курса ($p < 0,001$)

Таблица 2. Сдвиги распределения радиоактивности амплифицированной ДНК лейкоцитов крови в агарозном геле

Показатель	БПК		Контроль	
	до	после	до	После
Активность ядра, в Бк/нг ДНК	33866±799	37952±526 *	52638294±1012	36528±750
Активность хвоста, в Бк/нг ДНК	20643±383	16685±919 *	18678±1107	13244±808 *
Коэффициент фрагментации	0,61±0,02	0,44±0,03 *	0,49±0,03	0,36±0,02

Примечание: * – изменение статистически значимо в сравнении с результатами до проведения биопротективного курса ($p < 0,001$) по критерию Стьюдента

улучшил общее состояние их здоровья, благоприятно повлиял на уровень перекисного окисления и на показатели гуморального иммунитета [8].

Полученные результаты, свидетельствуют о том, что проведение курса биопротектики на основе испытанного комплекса биопротекторов не только у рабочих, на-

ходящихся под относительно высокой асбестовой экспозицией, но и у детей, подвергающихся неблагоприятному воздействию факторов окружающей среды, в том числе витающих в атмосфере волокнистых частиц хризотил-асбеста, является, целесообразным способом защиты от связанных с ними вредных эффектов. ■

Литература:

1. Chrysotile asbestos. Environmental health criteria 203. Geneva: WHO, 1998: 197.
2. Кацнельсон Б.А., Дегрева Т.Д., Привалова Л.И. Принципы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ. Екатеринбург: ЕМНЦ, 1999: 106.
3. Подходы к организации массовой биологической профилактики вредного влияния химического загрязнения среды обитания на здоровье детского населения и к оценке ее эффективности (опыт Свердловской области): Пособие для врачей. Екатеринбург: ФГУН ЕМНЦ, 2005: 44.
4. Оценка мутагенной активности факторов окружающей среды в клетках разных органов млекопитающих микро ядерным методом: Методические рекомендации. М.: Межведомственный научный совет по экологии и гигиене человека и окружающей среды, 2001: 21.
5. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммунофорезом и радиоизотопными методами. М.: Наука, 1983: 304.
6. Тациевский В.А. Измерение радиоактивности биологических образцов с помощью жидких сцинтилл-торов. Мед. радиологи. 1977; 7: 81-89.
7. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Сутункова М.П. и др. Ослабление цитотоксического, фиброгенного и мутагенного эффектов хризотил-асбеста в эксперименте на фоне влияния комплекса биопротекторов. Токсикол. вестн. 2008; 5: 21-7.
8. Сутункова М.П., Солобоева Ю.И., Бушуева Т.В. и др. Оценка эффективности контролируемого курса биопротектики экологически обусловленных заболеваний детского населения в г. Асбесте. Уральский мед. журн. 2010; 2: 33-5.