

УДК 575.224.23:575.224.6

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ-АЛАНИЯ С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

© 2012 Ф.Т. Чшиева¹, Л.В. Чопикашвили²

¹ Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и РСО-Алания

² Северо-Осетинский государственный университет

Поступила в редакцию 09.10.2012

В 48-часовой культуре лимфоцитов периферической венозной крови жителей Северной Осетии с нарушением репродуктивной функции выявлено увеличение частоты клеток с хромосомными aberrациями. После приема антимуагенов наблюдалось снижение частоты хромосомных aberrаций в клетках обследованных жителей.

Ключевые слова: *хромосомные aberrации, кластогенез, репродуктивная система*

Причины, вызывающие нарушение репродуктивного здоровья населения многообразны, однако не вызывает сомнений тот факт, что они прямо или косвенно связаны с генетическими факторами. Доказано, что в условиях техногенного загрязнения растет число бесплодных браков, спонтанных аборт, мертворождений, количество новорожденных с дефектами развития, раковых заболеваний и т. д. Население Северной Осетии на протяжении многих десятилетий подвергается действию техногенной нагрузки. В черте г. Владикавказа основными промышленными источниками загрязнения являются заводы цветной металлургии и некоторые другие предприятия. По данным Северо-Осетинской агрохимлаборатории и Севостеологоразведки в среднем километровой радиусе от предприятия суммарный показатель загрязнения почвы по 8-ми видам тяжелых металлов составляет более 400 мг/кг, что соответствует категории чрезвычайно опасного загрязнения. Загрязненность почв остальной части городской территории относится к категории высокой опасности, однако и в дальних пригородных зонах по некоторым направлениям содержание их остается опасной. Мутагены несут серьезную угрозу для генетической структуры популяции в будущем, поэтому одними из актуальных задач мониторинга являются изучение процессов генетической изменчивости человека и разработка системы мер для предотвращения развития неблагоприятных тенденций [1-3].

Чшиева Фатима Таймуразовна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник. E-mail: fa-2009@yandex.ru

Чопикашвили Лидия Васильевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой зоологии

Цель работы: проведение цитогенетического обследования жителей Северной Осетии с нарушением репродуктивной функции до и после приема антимуагенов.

Методика исследования. Цитогенетическое исследование проведено у 38 человек. Из них 22 человека (6 мужчин, 14 женщин) – жители Северной Осетии с нарушением репродуктивной функции (средний возраст 36 лет). В эту группу вошли жители с нарушениями сперматогенеза (6 человек: 5 человек с олигоспермией, 1 человек с азооспермией), а также с привычной потерей беременности – 10 человек, с первичным бесплодием – 6 человек. 5 человек из числа лиц с нарушением репродукции обследованы дважды до и после приема антимуагенов (средний возраст 31 год). В качестве возможных антимуагенов использовали афобазол и биомассу проростков пшеницы. Афобазол – селективный анксиолитик (2-[2-(морфолино)этилтио]-5-этоксибензимидазола гидрохлорид). Выбор лекарственного средства «афобазол» и его суточная доза основывались на результатах исследований, свидетельствующих в пользу наличия у афобазола антимуагенной и антитератогенной активности [4-5]. В работе использован афобазол производства ООО «Фармстандарт» в суточной дозе 30 мг в три приема перорально на протяжении 14 дней. Биомасса проростков пшеницы применялась по 1 столовой ложке 1 раз в день. Здоровые жители без нарушений репродуктивной функции и не связанные с вредным производством (16 человек: 12 женщин и 4 мужчин) вошли в группу сравнения, средний возраст в которой был равен 29 годам.

Цитогенетическое исследование проводили на препаратах метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови, культивируемых в условиях *in vitro*, в соответствии со стандартной

процедурой [2]. Цельную кровь (1 мл) культивировали макрометодом в культуральной смеси, состоящей из среды RPMI 1640 («Sigma») – 7,5 мл, сыворотки эмбриональной («BioClot») – 1,5 мл в пробирках объемом 15 мл. Для стимуляции деления клеток использовали фитогемагглютинин («ПанЭко») в концентрации 0,01 мг. Фиксацию клеточного материала осуществляли на 48-м часу культивирования. На каждого больного анализировали от 100 до 300 метафазных пластинок. Ахроматические пробелы учитывали отдельно. Всего проанализировано 6070 метафазных пластинок. Статистическую обра-

ботку фактического материала проводили по ф-критерию.

Результаты исследования. В табл. 1 представлены результаты цитогенетического обследования 16 здоровых доноров без нарушений репродуктивной функции. При анализе 2180 метафазных пластинок было выявлено 55 поврежденных метафаз ($2,5 \pm 0,3\%$). Выявленный результат по количественным и качественным показателям не отличается от данных других авторов, установленным при цитогенетическом обследовании здоровых доноров [7-9].

Таблица 1. Частота хромосомных aberrаций у жителей Северной Осетии с нарушением репродуктивной функции

Обследуемые группы людей	Кол-во проанализированных метафаз	Всего клеток с aberrациями ($M \pm m$), %	Aberrации (на 100 клеток)				Гены (на 100 клеток)	Полипloidия (на 100 клеток)
			одиночные фрагменты	хроматидные обмены	парные фрагменты	хромосомные обмены		
здоровые жители без нарушений репродуктивной функции и не связанные с вредным производством (n=16)	2180	$2,5 \pm 0,3$	1,60	0,05	0,28	0,64	1,15	0,18
жители PCO-A с нарушением репродуктивной функции (n=22)	3390	$3,8 \pm 0,3^*$	1,80	0,10	1,00	1,10	0,90	0,03
жители PCO-A с нарушением репродуктивной функции после приема мутагенов (n=5)	500	$2,6 \pm 0,7^{**}$	1,80	-	0,20	0,80	1,60	-

Примечание: * - $p < 0,001$ по сравнению со здоровыми жителями без нарушений репродуктивной функции и не связанными с вредным производством; ** - $p < 0,001$ по сравнению с лицами с нарушением репродуктивной функции, которым антимуагенная профилактика не проводилась

Анализ частоты хромосомных aberrаций жителей PCO-A с нарушением репродуктивной системы выявил достоверные отличия по сравнению с группой контроля (табл. 1). При анализе спектра хромосомных aberrаций выявлено изменение частот отдельных типов aberrаций, следует отметить, что доля aberrаций хромосомного типа зафиксированных у доноров с нарушением репродукции составила 52,5%, тогда как в группе здоровых жителей была равна 36%. Пределы колебаний aberrантных метафаз в тестируемых группах варьировали в широких пределах, максимальная частота хромосомных aberrаций выявлена в группе жителей Северной Осетии с нарушением репродуктивной функции (табл. 2). В результате проведенного цитогенетического анализа было выявлено значимое превышение числа клеток содержащих более 1 хромосомной aberrации в группе жителей PCO-A с нарушением репродуктивной системы

по сравнению с группой здоровых доноров, мультиабerrантных клеток не обнаружено (табл. 2). На основании экспериментальных данных полученных у доноров с нарушением репродуктивной системы после 14-дневного приема антимуагенов было отмечено снижение частоты хромосомных aberrаций (табл.1, 2). При анализе частот отдельных типов aberrаций установлено, что после проведения антимуагенной терапии частота aberrаций хроматидного типа существенно не изменилась, но значительно снизилось количество метафаз содержащих aberrации хромосомного типа до 35,7%, что достоверно не отличается от результатов здоровых доноров (табл. 1). После 14-дневного приема антимуагенов у доноров наблюдалось снижение метафаз содержащих более 1 aberrации, что также свидетельствует о снижении мутагенной нагрузки у обследованных.

Таблица 2. Цитогенетическое обследование жителей РСО-А с нарушением репродуктивной функции

Обследуемые группы жителей Северной Осетии	Всего клеток с аберрациями (M±m), %	Клеток содержащих более 1 хромосомной аберрации	Пределы колебаний аберрантных метафаз
здоровые жители без нарушений репродуктивной функции и не связанные с вредным производством (n=16)	2,2±0,3	0,03	1-4
жители РСО-А с нарушением репродуктивной функции (n=22)	3,8±0,3	0,30*	2-9
жители РСО-А с нарушением репродуктивной функции после приема антимуагенов (n=5)	2,6±0,7	0,20	1-4

Примечание: * - $p < 0,001$ по сравнению со здоровыми жителями без нарушений репродуктивной функции

Выводы: результаты проведенного цитогенетического исследования в группе жителей с нарушением репродуктивной функции свидетельствуют об увеличении уровней хромосомного мутирования. Полученные экспериментальные данные показывают необходимость антимуагенной профилактики у категории граждан входящих в эту группу и перспективы использования с этой целью препаратов с антимуагенными свойствами – афобазола и проростков пшеницы.

Авторы благодарят заведующую поликлиническим отделением Республиканского Центра Планирования Семьи и Репродукции Золоеву Л.О. за помощь при сборе материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Биологический контроль окружающей среды: Генетический мониторинг / под ред. С.А. Гераськина и Е.И. Саратупцевой. – М., 2010. 208 с.
2. Бочков, Н.П. Метод учета хромосомных повреждений как биологический индикатор влияния факторов внешней среды на человека. – М., 1974. 34 с.
3. Дурнев, А.Д. Генетическая токсикология // Вестник Российской академии медицинских наук. 2011. №9. С. 35-43.
4. Шредер, О.В. Влияние афобазола на тератогенные эффекты циклофосамида у крыс / О.В. Шредер, Н.М. Смольникова, А.Д. Дурнев, С.В. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. № 4. С. 414-417.
5. Дурнев, А.Д. Влияние афобазола на генотоксические эффекты табачного дыма в плаценте и в тканях эмбрионов крыс / А.Д. Дурнев, А.С. Соломина, А.К. Жанатаев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. № 3. С. 286-289.
6. Бочков, Н.П. Метод учета хромосомных повреждений как биологический индикатор влияния факторов внешней среды на человека. – М., 1974. 34 с.
7. Сиднева, Е.С. Оценка спонтанного и химически индуцированного мутагенеза в клетках человека в зависимости от витаминной обеспеченности / Е.С. Сиднева, Л.Д. Катосова, В.И. Платонова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2005. Том 139, №5. С. 199-203.
8. Савченко, Я.А. Цитогенетический анализ генотоксических эффектов у работников теплоэнергетического производства / Я.А. Савченко, В.Г. Дружинин и др. // Генетика. 2008. Том 44, № 6. С. 857-862.
9. Ревазова, Ю.А. Генетический полиморфизм и частота спонтанных и индуцированных хромосомных аберраций в лимфоцитах жителей Москвы / Ю.А. Ревазова, А.Н. Чеботарев и др. // Медицинская генетика. 2009. № 4. С. 26-34.

CYTOGENETIC EXAMINATION THE INHABITANTS OF REPUBLIC NORTHERN OSETIA-ALANYA WITH DAMAGE OF REPRODUCTIVE FUNCTION

© 2012 F.T. Chshiyeva¹, L.V. Chopikashvili²

¹ Institute of Biomedical Researches of VSC RAS and RSO-Alania

² North Ossetia State University

In 48-hour culture of peripheral blue blood lymphocytes of inhabitants of North Osetia with damage of reproductive function the increase in frequency of sells with chromosomal aberrations is revealed. After reception the anti-mutagens decrease in frequency of chromosomal aberrations in cells of the surveyed inhabitants was observed.

Key words: chromosomal aberrations, clastogenesis, reproductive system

Fatima Chshieva, Candidate of Biology, Minor Research Fellow. E-mail: fa-2009@yandex.ru
Lidiya Chopikashvili, Doctor of Biology, Professor, Head of the Zoology Department