

УДК: 575:224. 23

СИСТЕМА ОЦЕНКИ РЕГИОНАЛЬНОГО ФОНОВОГО УРОВНЯ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ

© 2013 В.И. Минина

Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово

Поступила в редакцию 14.08.2013

Результаты многолетнего цитогенетического мониторинга территорий Кемеровской области позволили определить основные подходы и проблемы при оценке регионального фонового уровня хромосомных aberrаций. Предложена система, позволяющая стандартизовать его определение. Предложен ряд этапов и критериев подбора групп для оценки базового уровня хромосомной мутабельности в регионе. Охарактеризованы результаты использования данной системы на примере крупного промышленного региона – Кемеровской области.

Ключевые слова: *хромосомные aberrации, региональный фоновый уровень мутаций*

Анализ хромосомного мутагенеза в лимфоцитах крови человека является надежным и достаточно широко используемым методом при проведении генетического мониторинга состояния внешней среды [3]. Уровень хромосомных aberrаций (ХА) в данных клетках является важной количественной характеристикой мутагенеза в организме в целом. В многочисленных работах проводились исследования частот ХА среди разных контингентов населения: детей и взрослых, занятых на вредных производствах и не контактирующих с промышленными токсикантами, проживающих в экологически чистых (например, сельских) районах и у жителей экологически неблагоприятных территорий, у больных и здоровых лиц и т.д. [1-5, 7]. Отправной точкой для сравнения результатов различных исследований является определение регионального фонового уровня ХА, т.к. базовый уровень спонтанного мутагенеза может существенно отличаться в различных регионах. Это может быть связано с целым рядом факторов: с общим фоном техногенного загрязнения среды в изучаемом регионе, с региональными природно-климатическими особенностями, с особенностями изученной выборки (образа жизни, возраста и состояния здоровья обследованных), с особенностями методических подходов, использовавшихся при учете ХА. Получение корректной оценки фонового уровня ХА должно быть сопряжено с соблюдением единообразных методических правил выбора групп для исследования и стандартизации проведения исследования ХА.

Цель работы: разработка системы оценки регионального фонового уровня ХА.

Материалы и методы. При разработке системы за основу были взяты стандартные способы культивирования клеток крови [6], учета ХА в лимфоцитах крови человека [3], анализа количественных характеристик частоты ХА в группе

жителей крупного промышленного региона [4]. Многолетний цитогенетический мониторинг территорий Кемеровской области позволил установить, что для оценки фонового уровня ХА недостаточно просто обследовать жителей сел и деревень без предварительного учета множества факторов, способных модифицировать базовый уровень мутаций. Кроме того, любое цитогенетическое обследование должно проводиться в соответствии с нормами профессиональной этики – с соблюдением принципов конфиденциальности получаемой информации, обеспечения права человека отказаться от участия в обследовании и информирования испытуемого о результатах и использовании получаемой информации. Во время проведения обследования не допускается присутствие посторонних. Взятие крови осуществляется только одноразовым оборудованием и проводится профессионалами, имеющими разрешение на проведение всех манипуляций. Перед проведением анализа все анкеты и препараты шифруются и расшифровывают только после получения всего массива данных.

Помимо соблюдения данных технических особенностей важно выполнение определенных методических приемов формирования групп регионального базового контроля. В связи с этим были разработаны этапы и критерии включения групп в систему оценки фонового уровня ХА. С применением данного подхода был охарактеризован фоновый уровень ХА в Кемеровской области.

Результаты и обсуждение. Была разработана система оценки регионального фонового уровня ХА, включающая последовательные этапы (табл. 1) и сформулирован ряд критериев, соблюдение которых важно на каждом этапе проведения исследований для получения адекватных значений регионального фонового уровня ХА.

Критерии включения групп.

Выбор территории:

1. Выборка должна находиться на территории, удаленной от крупных городов и промышленных центров не менее, чем на 100 км, её природно-

Минина Варвара Ивановна, кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией цитогенетики. E-mail: vminina@mail.ru

климатические особенности не должны резко отличаться от региональных.
 2. На обследуемой территории не должно находиться предприятий или вестись добыча полезных ископаемых.
 3. Анализ данных по загрязнению окружающей среды (результаты ежегодного экологического мониторинга территорий по загрязнению воздуха, воды, почвы или при отсутствии таких данных – по

результатам ежегодных форм 2тп) должен позволять отнести территорию к категории «экологически чистых».
 4. Радиационная обстановка, в том числе и по природному радиоактивному газу радону, должна быть в пределах, описанных в нормативных документах, норм.
 5. Онкологическая и общая заболеваемость не должна превышать среднеобластных значений.

Таблица 1. Этапы оценки регионального фонового уровня хромосомных aberrаций



Выбор обследуемых групп (не менее пяти для достижения статистической значимости). Выборка должна:

- включать лиц разного пола и возраста (дети и взрослые);
- учитывать их национальность и длительность проживания в данном населенном пункте;
- иметь подробные анкетные данные на обследованных доноров, включая информацию о профмаршруте, контакте с ядохимикатами и пр.;
- исключать лиц с тяжелыми хроническими заболеваниями и врожденными пороками включать лиц, не подвергавшихся рентгенологическому обследованию и не принимавших лекарственные препараты в течение трех месяцев до забора крови для анализа хромосомных aberrаций

Выбор методов:

1. Выполнение всех работ по культивированию, подготовке препаратов и их анализу оптимально проводить в одной лаборатории (с целью унификации всех этапов и исключения межлабораторной вариабельности).

2. Выбор единого стандартного протокола культивирования (микро-метод, полумикрометод,

макрометод); длительность культивирования должна составлять оптимально 48 часов, т.к. увеличение времени, может привести к росту ХА.

3. На каждого обследуемого должно быть проанализировано не менее 100 клеток (оптимально от 200 и более).

4. Статистическая обработка результатов должна предусматривать создание пополняемой базы данных в виде связанных таблиц анкетных данных, сведений о состоянии здоровья на момент обследования и результатов учета ХА.

5. Дополнение другими методами учета мутаций (микроядерный тест, тест Эймса и др.)

6. В случае выявления повышенного уровня ХА (выше 3%) необходимо проведение повторного исследования в данном населенном пункте и выяснение причин.

В ходе экспедиций 2001-2011 гг., проведенных кафедрой генетики Кемеровского госуниверситета, было обследовано население следующих территорий Кемеровской области: с. Красное Ленинск-Кузнецкого района, с. Раз-долье и с. Зарубино Топкинского района, с. Плотниково Промышленновского района, с. Тараданово Крапивинского

района, п. Юрты-Кон-стантиновы, п. Ленинский, с. Пача Яшкинского района, с. Беково Беловского района, г. Таш-тагол и с. Шалым Таштагольского района. Ока-зались не соответствующими критериям включения и были исключены из анализа фонового уровня ХА населенные пункты Таштагольского района (г. Таштагол – выявлено присутствие повышенного уровня радиоактивного газа радона, с. Шалым – неудовлетворительное состояние здоровья доноров). Остальные группы и обследованные лица соответствовали критериям и были включены в общую выборку доноров для определения фонового уровня ХА (n=391). В результате было установлено, что региональный фоновый уровень ХА в Кемеровской области составляет $2,87 \pm 0,09\%$. Преобладающим типом повреждений хромосом у обследованных жителей Кемеровской области являются абберации хроматидного типа – $2,12 \pm 0,08\%$. Нарушения, захватывающие обе хроматиды – абберации хромосомного типа, встречались в среднем, с частотой $0,85 \pm 0,05\%$. В выборке жителей Европейской части России и стран СНГ, включенных в группу базисного контроля, фоновый уровень составил $2,13 \pm 0,09\%$ [2].

Выводы: можно констатировать, что фоновая частота аббераций, зарегистрированная у жителей Кемеровской области находится на верхнем уровне спонтанных мутаций хромосом в лимфоцитах, описываемом в литературе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Агаджанян, А.В. Геномная нестабильность у детей, рожденных после аварии на ЧАЭС (исследования *in vitro* и *in vivo*) / А.В. Агаджанян, И.И. Сусков // Генетика. 2010. Т. 46(6). С. 834-854.
2. Бочков, Н.П. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных аббераций в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Н.П. Бочков, А.Н. Чеботарев, Л.Д. Катосова, В.И. Платонова // Генетика. 2001. Т. 37, №4. С. 549-557.
3. Бочков, Н.П. Хромосомы человека и облучение. – М.: Атомиздат, 1971. 168 с.
4. Дружинин, В.Г. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных аббераций в лимфоцитах жителей промышленного района Западной Сибири / В.Г. Дружинин, А.Н. Волков, В.И. Минина и др. // Генетика человека и патология: Сб. науч. трудов. Под ред. В.П. Пузырева. - Томск, 2002. Вып.6. С. 58-64.
5. Минина, В.И. Количественные характеристики частоты хромосомных аббераций у жителей районов с различным уровнем онкологической заболеваемости / В.И. Минина, В.Г. Дружинин, А.Н. Глушков и др. // Генетика. 2009. Т. 45, №2. С. 239-246.
6. Hungerford, P.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. 1965. V. 40. P. 333-338.
7. Sram, R.J. Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic / R.J. Sram, P. Rossner, Z. Smerhovsky // Mutat. Res. 2004. V. 566. P. 21-48.

SYSTEM OF THE ASSESSMENT THE REGIONAL BACKGROUND LEVEL OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS

© 2013 V.I. Minina

Institute of Human Ecology SB RAS, Kemerovo

Results of long-term cytogenetic monitoring of Kemerovo oblast territories allowed to define the main approaches and problems at the assessment of regional background level of chromosomal aberrations. The system, allowing to standardize its definition is offered. A number of stages and criteria of selection of groups for assessment of a basic level of chromosomal mutability in the region is offered. Results of use of this system on the example of the large industrial region – Kemerovo oblast are characterized.

Key words: *chromosomal aberrations, regional background level of mutations*