

А.Е. Сосюкин¹, Л.Г. Аржавкина^{1,2}, А.Б. Верведа¹,
В.Ф. Пимбурский¹, А.Н. Жекалов², Т.В. Харченко^{2,3}



Цитогенетические нарушения у работников конверсионного производства

¹Институт промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Резюме. Проведен анализ хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови работников двух подразделений Сибирского химического комбината – персонала сублиматного завода и администрации предприятия. Установлено значимое ($p < 0,001$) увеличение общей частоты aberrаций ($7,24 \pm 0,048$ на 100 клеток) у работников сублиматного завода относительно группы сравнения ($1,29 \pm 0,66$ на 100 клеток). Проведено сопоставление частот ХА хроматидного и хромосомного типа. Показано, что увеличение общей частоты aberrаций произошло главным образом за счет возросшего уровня aberrаций хроматидного типа, преимущественно одиночных фрагментов. Данный показатель у работников сублиматного завода составил $6,4 \pm 0,41$ на 100 клеток против $1 \pm 0,52$ в группе сотрудников администрации ($p < 0,001$). Высокий уровень хромосомных aberrаций у работников сублиматного завода свидетельствует о мутагенной активности профессиональных факторов, действующих на предприятии. Низкая доля aberrаций хромосомного типа говорит об отсутствии значимой дозовой нагрузки на персонал, в то время как высокая частота aberrаций преимущественно хроматидного типа позволяет сделать предположение о ведущей роли факторов нерадиационной природы в формировании генотоксических эффектов у работников сублиматного завода и заставляет обратить внимание на вопросы химической безопасности данного производства. Полученные результаты говорят о необходимости проведения регулярного цитогенетического мониторинга на Сибирском химическом комбинате даже в условиях благоприятной радиологической обстановки.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, цитогенетический мониторинг, лимфоциты периферической крови, атомная промышленность, конверсионное производство, безопасность персонала.

Введение. Расположенный в Томской области Сибирский химический комбинат (СХК) является одним из крупнейших в мире предприятий ядерно-химической промышленности. Работа таких объектов во всем мире является потенциально опасной, поскольку в процессе производственной деятельности ими создаются радиоактивные и сопутствующие им химические компоненты.

На сегодняшний день на предприятии обеспечена степень безопасности, практически исключающая возможность переоблучения персонала, поэтому на передний план выходит проблема оценки риска развития отдаленных последствий для здоровья персонала при штатном режиме работы предприятия. В этой связи генетическое здоровье работников Сибирского химического комбината с его потенциально опасным в генетическом отношении производством является объектом повышенного внимания. При этом дизайн исследования определяется спецификой основного техногенного агента, действующего на предприятии, – ионизирующего излучения, а основной интерес для исследователей представляют работники наиболее опасных в радиационном отношении заводов – подразделения изотопов, радиохимического и химико-металлургического [4, 6, 9–11].

Однако, помимо радиоактивных изотопов, работники комбината контактируют с целым рядом химических соединений, многие из которых при штатном режиме работы предприятия могут представлять собой значительно более серьезную угрозу для здоровья работников, чем ионизирующая радиация. Это особенно актуально для работников конверсионного производства, расположенного на сублиматном заводе (СЗ) СХК. Основным продуктом СЗ – сырьевой гекса-фторид урана с содержанием изотопа U^{235} не более 1%, являющийся материалом с низкой радиоактивностью и не представляющий большой радиологической угрозы [1]. С другой стороны, гексафторид урана является наиболее токсичным среди растворимых соединений урана, обладая не столько лучевым, сколько химическим воздействием на ткани [2]. Помимо обладающих химической токсичностью соединений урана, в комплекс профессиональных вредностей работников СЗ входит возможный контакт с соединениями фтора, хлора, оксидами азота, кислотами, щелочами и рядом других компонентов.

Для оценки вклада радиационной и химической составляющей в развитие генетических эффектов у работников СЗ наиболее подходящим, на наш взгляд, является анализ хромосомных aberrаций (ХА) в

лимфоцитах периферической крови. Этот метод в настоящее время считается одним из наиболее разработанных, стандартизированных, общепризнанных и достаточно чувствительных способов оценки мутагенных эффектов как производственных, так и средовых факторов. Изменение частоты и спектра ХА у людей, профессионально контактирующих с каким-либо потенциально опасным в мутагенном отношении фактором, позволяет с достаточной определенностью ответить на вопрос о радиационной или нерадиационной природе мутагенного эффекта.

Цель исследования. Проанализировать частоту и спектр ХА в лимфоцитах периферической крови работников конверсионного производства, расположенного на СЗ СХК, и оценить вклад факторов радиационной и нерадиационной природы в формирование генотоксических эффектов у работников СЗ.

Материалы и методы. Проведен анализ ХА у двух групп работников СХК. Основную группу составили 22 работника конверсионного производства в возрасте от 34 до 64 лет (в среднем $51,79 \pm 1,68$ лет) со стажем работы от 15 лет (в среднем $31,25 \pm 1,99$ лет). В качестве группы сравнения обследовано 6 человек из числа работников администрации СХК, не связанных напрямую с производственным циклом (средний возраст $38,17 \pm 1,45$ лет, стаж работы на предприятии $16,67 \pm 2,23$). От каждого человека получено информированное согласие на проведение генетического исследования и собраны анкетные данные, учитывающие возможные контакты с бытовыми мутагенами, вредные привычки и принимаемые лекарственные препараты.

Культивирование лимфоцитов периферической крови и получение препаратов метафазных хромосом осуществляли по стандартной методике с использованием питательной среды RPMI 1640 и эмбриональной телячьей сыворотки. Через 48–52 ч после начала культивирования для накопления клеток в стадии метафазы вводили колхицин. На каждого обследованного ставили две параллельные пробы, препараты шифровали и анализировали с помощью светового микроскопа под иммерсией при увеличении 100×10 , результаты выражены в количестве повреждений на 100 клеток. От каждого человека было проанализировано от 100 до 156 метафазных пластинок. В соответствии с методи-

ческими указаниями Всемирной организации здравоохранения [13] анализировали все виды хромосомных aberrаций, распознаваемые без кариотипирования. Математическая обработка данных производилась при помощи пакета прикладных программ Statistica for Windows, версия 6.0. Вычислялось среднее значение (M), ошибка среднего (m) и стандартное отклонение (SD), все оценки групповых частот aberrаций были получены в результате усреднения индивидуальных частот, соответствующие ошибки отражали групповую изменчивость частот aberrаций, то есть не вычислялись через суммарное число клеток для группы. Поскольку распределение ХА отличалось от нормального, для оценки статистической значимости различий использовался критерий Манна – Уитни, различия признавали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что частота ХА в группе работников администрации совпадает с частотой aberrантных метафаз и в целом соответствует имеющимся в литературе данным о частоте ХА у неэкспонированных работников СХК [4] и жителей прилегающего к комбинату региона [5, 6, 10].

У работников конверсионного производства общая частота ХА была статистически значимо повышена относительно группы сравнения и составила $7,24 \pm 0,048$ против $1,29 \pm 0,66$ ($p < 0,001$), таблица 1.

При этом увеличение общей частоты ХА произошло главным образом за счет возросшего уровня одиночных фрагментов. Данный показатель составил у них $6,40 \pm 0,41$ ХА на 100 клеток против $1 \pm 0,52$ в группе работников администрации, $p < 0,001$.

Спектр ХА является важной характеристикой когорты, поскольку характер его изменений под действием мутагенов радиационной и химической природы различен. Для спонтанного и индуцированного химическими веществами мутагенеза характерно преимущественно образование aberrаций хроматидного типа, в то время как под воздействием ионизирующей радиации спектр ХА сдвигается в сторону увеличения (вплоть до преобладания) aberrаций хромосомного типа. Именно такая картина наблюдается у работников трех основных производств СХК, подвергающихся в процессе профессиональной деятельности низкодозовому внешнему, внутреннему или сочетанному облучению [4, 10]. Однако у работников конверсион-

Таблица 1

Цитогенетические показатели у работников СХК

Показатель	Работники сублиматного завода		Работники администрации	
	M±m	SD	M±m	SD
Цитогенетические нарушения, на 100 клеток				
Общая частота ХА	$7,24 \pm 0,048^*$	2,25	$1,29 \pm 0,66$	1,62
Одиночные фрагменты	$6,37 \pm 0,42^*$	1,98	$1,13 \pm 0,53$	1,3
Хроматидные обмены	$0,08 \pm 0,05$	0,25	0	0
Дицентрические хромосомы	$0,19 \pm 0,09$	0,44	0	0
Парные фрагменты	$0,60 \pm 0,33$	1,55	$0,17 \pm 0,17$	0,41

Примечание: * – $p < 0,001$.

ного производства распределение ХА по различным типам было близко к распределению ХА в группе работников администрации и соответствовало спектру, свойственному для спонтанного мутагенеза. В обеих группах преобладали аберрации хроматидного типа, составив 87% всех ХА в группе работников администрации и 89% в группе рабочих СЗ. В то же время в группе работников СЗ зафиксированы отсутствующие у работников администрации типы аберраций – дицентрические хромосомы и хроматидные обмены. Однако количество дицентрических хромосом достоверно не отличалось от группы сравнения и в данном случае их наличие не может быть истолковано как свидетельство облучения в настоящее время. У двоих работников СЗ обнаружены клетки с множественными хромосомными нарушениями, что может свидетельствовать о значительном мутагенном воздействии.

В целом, высокая частота ХА и наличие у обследованных клеток с более чем одной аберрацией свидетельствуют о повышенной мутагенности факторов производства, а соотношение хроматидных и хромосомных аберраций и тот факт, что увеличение общей частоты аберраций произошло в основном за счет одиночных фрагментов, говорит о ведущем вкладе в картину цитогенетических нарушений химического фактора. О влиянии мутагенов химической природы может также говорить и появление у работников СЗ хроматидных обменов, однако различия с контрольной группой не достигали уровня статистической значимости. Полученные уровни одиночных фрагментов и общей частоты ХА заметно выше отмеченных большинством исследователей у персонала трех основных производств СХК (плутониевого, реакторного и радиохимического) [10, 11]. В то же время наши данные хорошо согласуются с результатами, полученными сотрудниками Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук у работников СХК с дозой облучения до 100 мЗв [6]. Более того, авторы также отмечают, что повышение общей частоты хромосомных нарушений произошло за счет аберраций нерадиационной природы, при этом частота двухударных обменных хромосомных аберраций (маркеров радиационного воздействия) у обследованных лиц находилась в пределах спонтанного уровня. К сожалению, в данной работе не указано, на каком из заводов, входящих в СХК, было проведено исследование.

Как уже было сказано выше, при обследовании работников СХК основное внимание закономерно уделяется эффектам ионизирующей радиации, поскольку ее воздействие является мощным канцерогенным фактором, и работники Сибирского химического комбината, подвергающиеся действию ионизирующего излучения в процессе профессиональной деятельности, представляют группу высокого риска развития онкопатологии. Однако, если действие ионизирующего излучения строго учитывается, то воздействию химических факторов, на наш взгляд,

уделяется недостаточное внимание. В процессе разработки комплекса санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на обеспечение безопасности производственной среды СХК, сотрудники научно-исследовательского института промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства России выявили ряд недостатков в обеспечении производственной безопасности на конверсионном производстве. Так, среднесменные концентрации паров гидрофторида на рабочих местах аппарата электролиза и аппарата получения фтористого водорода составляли 0,235 и 0,194 мг/м³ при предельно допустимой концентрации 0,1 мг/м³. Кроме того, выявленные существенные отклонения фактической производительности вентиляционных систем от проектной и тепловыделения от нагретого оборудования создают на 100% рабочих мест дискомфортные микроклиматические условия труда. Так, в период обследования в различных цехах СЗ зафиксировано не соответствующее требованиям СанПиН 2.2.4.548-96 и ГОСТ 12.1.005-88 превышение верхних нормируемых пределов по температуре воздуха и средней радиационной температуре до 20,5°C и 17,8°C соответственно [8].

Само по себе повышение температуры выше оптимального уровня и гипоксия не оказывают существенного влияния на индукцию мутаций, но могут приводить к усилению мутагенного действия радиации и химических генотоксикантов [12, 14].

Таким образом, физические и химические мутагенные факторы и модификаторы мутагенного действия, действующие на конверсионном производстве СХК и обусловившие увеличение уровня ХА у работников, крайне разнообразны. Отчетливое преобладание в спектре выявленных нарушений аберраций хроматидного типа позволяет предположить ведущую роль факторов нерадиационной природы в формировании генотоксических эффектов у работников СЗ и заставляет обратить внимание на вопросы химической безопасности данного производства. Существуют данные о том, что увеличение частоты хроматидных разрывов увеличивает канцерогенный риск [15], а вероятность того, что регистрируемые генотоксические эффекты приведут к отдаленному развитию патологии, не зависит от характера профессионального воздействия [7]. Высокий уровень ХА свидетельствует о необходимости проведения регулярного цитогенетического мониторинга на СХК даже в условиях благоприятной радиологической обстановки.

Литература

1. Годовой отчет акционерного общества «Сибирский химический комбинат». – Северск: АО «СХК», 2015. – 244 с.
2. Калистратова, В.С. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов / В.С. Калистратова [и др.]. – М.: ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2012. – 464 с.
3. Котеров, А.Н. Малые дозы радиации: факты и мифы. Книга первая. Основные понятия и нестабильность генома / А.Н. Котеров. – М.: Изд-во ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2011. – 283 с.

4. Литвяков, Н.В. Частота и спектр цитогенетических нарушений у работников Сибирского химического комбината / Н.В. Литвяков [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2014. – Т. 54, № 3. – С. 283–296.
5. Минина, В.И. Динамика уровня хромосомных aberrаций у жителей промышленного города в условиях изменения загрязнения атмосферы / В.И. Минина [и др.] // Экологическая генетика человека. – 2014. – Т. XII, № 3. – С. 60–70.
6. Назаренко, С.А. Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье / С.А. Назаренко [и др.]. – Томск: Печатная мануфактура, 2004. – 272 с.
7. Нугис, В.Ю. Частота aberrаций хромосом в лимфоцитах и риск развития заболеваний (обзор) / В.Ю. Нугис, М.Г. Козлова // Саратовский науч.-мед. журн. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 783–787.
8. Степанов, В.В. Санитарно-гигиеническая оценка состояния производственной среды и условий труда персонала основных цехов химически и радиационно опасного предприятия АО «Сибирский химический комбинат» / В.В. Степанов [и др.] // Сб. мат. Всеросс. научн.-практ. конф., посвященной 55-летию ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 17 февраля 2017 г., СПб. – СПб: Изд-во Политехнического университета. – 2017. – С. 278–280.
9. Тахауов, Р.М. Основные подходы к оценке влияния радиационного фактора на организм человека / Р.М. Тахауов [и др.] // Бюлл. сиб. мед. – 2005. – № 2. – С. 88–99.
10. Тимошевский, В.А. Хромосомный и цитометрический анализ соматических клеток работников радиохимического производства с инкорпорированным ^{239}Pu / В.А. Тимошевский [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – Т. 50, № 6. – С. 672–680.
11. Фрейдин, М.Б. Частота и спектр хромосомных aberrаций у работников Сибирского химического комбината / М.Б. Фрейдин [и др.] // Бюлл. сиб. мед. – 2005. – № 2. – С. 75–82.
12. Bolt, H.M. Carcinogenicity categorization of chemicals—new aspects to be considered in a European perspective / H.M. Bolt [et al.] // Toxicol. Lett. – 2004. – Vol. 151, № 1. – P. 29–41.
13. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations. International programme on chemical safety. Environmental health criteria Geneva: WHO, 1985. – Vol. 46–21 p.
14. Savoia, E.J. Biomonitoring genotoxic risks under the urban weather conditions and polluted atmosphere in Santo Andre., SP, Brazil, through Trad-MCN bioassay / E.J. Savoia, M. Domingos, E.T. Guimaraes // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2009. – Vol. 37, № 4. – P. 119–123.
15. Smerhovsky, Z. Increased risk of cancer in radon-exposed miners with elevated frequency of chromosomal aberrations / Z. Smerhovsky [et al.] // Mutat. Res. – 2002. – Vol. 514, № 1–2. – P. 165–176.

A.E. Sosyukin, L.G. Arzhavkina, A.B. Verveda, V.F. Pimburskiy, A.N. Zhekalov, T.V. Kharchenko

Cytogenetic alterations in the conversion facility workers

Abstract. Chromosomal aberrations analysis was performed in peripheral blood lymphocytes of the two groups of Siberian Chemical plant employers – sublimation factory staff and the administration. Chromosomal aberrations frequency ($7,24 \pm 0,048$ per 100 cells) in the sublimation factory staff were significantly ($p < 0,001$) increased relative to the administration group ($1,29 \pm 0,66$ per 100 cells) mainly because increasing of single fragments. This type of chromosomal aberrations in staff was $6,4 \pm 0,41$ per 100 cells vs. $1 \pm 0,52$ in the administration group ($p < 0,001$). The rates of chromatid and chromosome types of chromosomal aberrations were comprised. The high level of chromosomal aberrations in the sublimation factory staff indicate to mutagenicity of occupational factors of the factory. Low level of chromosome type of chromosomal aberrations indicate an absence of important radiation exposure. Bias of the chromatid type of chromosomal aberrations allows proposing of the leading role of non-radiation factors in the formation of genotoxic effects in the sublimation factory staff. It draws attention to issues of chemical safety of the enterprise. These results suggest the need for regular cytogenetic monitoring at the Siberian Chemical Plant, even under favorable radiological situation.

Key words: chromosome aberrations, cytogenetic monitoring of peripheral blood lymphocytes, the nuclear industry, a conversion facility, the safety of personnel.

Контактный телефон: 8-904-633-40-87; e-mail: vanadzor_@rambler.ru