

МИКРОЯДРА В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ДЕЙСТВУЮЩИХ И БЫВШИХ УГОЛЬНЫХ ШАХТЕРОВ: ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТРАКОСИЛИКОЗА

© В.Г. Дружинин¹, С.В. Апалько², Е.Д. Баранова¹, В.П. Волобаев¹, Т.Ю. Дробчик¹, А.В. Ларионов¹,
Е.Г. Хиль³, Е.В. Часовских³

¹ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово;

² СПбГБУЗ «Городская больница № 40» Курортного района, Санкт-Петербург;

³ ГАУЗ Кемеровской области «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово

Для цитирования: Дружинин В.Г., Апалько С.В., Баранова Е.Д., и др. Микроядра в лимфоцитах крови действующих и бывших угольных шахтеров: оценка влияния антракосиликоза // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 4. – С. 57–64. <https://doi.org/10.17816/ecogen17457-64>.

Поступила: 30.08.2019

Одобрена: 09.12.2019

Принята: 17.12.2019

✿ Изучали микроядра (МЯ) и другие цитогенетические повреждения в лимфоцитах крови, культивируемых с блоком цитокинеза в трех сопоставимых по возрасту группах мужчин: 74 угольных шахтеров, страдающих антракосиликозом (АС), 41 здорового шахтера, 70 контрольных доноров. Выявили достоверное увеличение частоты МЯ с одновременным снижением пролиферативной активности в выборках здоровых и больных шахтеров по сравнению с контролем. Уровень МЯ в лимфоцитах больных АС значимо превышал соответствующий показатель в выборке здоровых шахтеров ($1,22 \pm 0,05$ % против $1,03 \pm 0,07$ %; $p < 0,01$). Возраст обследуемых и статус курения не имели значимого влияния на частоты цитогенетических показателей. Таким образом, наличие АС у шахтеров вносит дополнительный вклад в формирование МЯ в лимфоцитах. Этот вклад, вероятно, обусловлен окислительным стрессом, сопровождающим воспалительные процессы при легочном фиброзе. Результаты исследования указывают также на отсутствие различий в частоте МЯ при сравнении подгрупп действующих и бывших шахтеров. Это означает, что генотоксические эффекты в лимфоцитах шахтеров способны сохраняться длительное время после прекращения экспозиции неблагоприятными факторами угледобывающего производства.

✿ **Ключевые слова:** угольные шахтеры; производственные вредности; антракосиликозы; мутагенез; нестабильность генома; микроядра.

MICRONUCLEI IN BLOOD LUMPHOCYTES OF EXISTING AND FORMER COAL MINERS: EVALUATION OF THE EFFECT OF ANTHRACOSILICOSIS

© V.G. Druzhinin¹, S.V. Apalko², E.D. Baranova¹, V.P. Volobaev¹, T.Yu. Drobchik¹,
A.V. Larionov¹, E.G. Hill³, E.V. Chasovskikh³

¹ Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

² City Hospital No. 40, St. Petersburg, Russia;

³ S.V. Belyaev Clinical Hospital, Kemerovo, Russia

Cite this article as: Druzhinin VG, Apalko SV, Baranova ED, et al.

Micronuclei in blood lymphocytes of existing and former coal miners: evaluation of the effect of anthracosilicosis.

Ecological genetics. 2019;17(4):57-64. <https://doi.org/10.17816/ecogen17457-64>.

Received: 30.08.2019

Revised: 09.12.2019

Accepted: 17.12.2019

✿ **Background.** The purpose of this study was to investigate the genotoxic risk in anthracosilicosis patients and in those with occupational exposure to coal dust. **Materials and methods.** We studied micronuclei (MN) and other cytogenetic lesions in blood lymphocytes in three groups of men comparable in age: 74 coal miners suffering from anthracosilicosis (AS), 41 healthy miners, and 70 control donors. **Results.** A significant increase in the frequency of MN was revealed with a simultaneous decrease in proliferative activity in samples of healthy and sick miners compared with the control. The level of MN in the lymphocytes of patients with AS significantly exceeded the corresponding indicator in the sample of healthy miners ($1.22 \pm 0.05\%$ versus $1.03 \pm 0.07\%$; $p < 0.01$). The age of the subjects and the status of smoking did not have a significant effect on the frequency of cytogenetic parameters. **Conclusion.** AS in miners makes an additional contribution to the formation of DNA damage in lymphocytes. This contribution is probably due to oxidative stress accompanying inflammatory processes in pulmonary fibrosis. The results of the study also indicate the absence of differences in the frequency of MN when comparing subgroups of current and former miners. This means that the genotoxic effects in the lymphocytes of miners are able to persist for a long time after the termination of exposure by adverse factors in coal mining.

✿ **Keywords:** coal miners; industrial hazards; anthracosilicosis; mutagenesis; genome instability; micronuclei.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования по оценке биомедицинских последствий воздействия мутагенов на организм человека за последние десятилетия сформировались в рамках основных направлений генетической токсикологии [1]. Наиболее интенсивное воздействие комплекса генотоксикантов на популяцию человека следует ожидать при профессиональном контакте с производственными вредностями. Этот факт многократно доказан в исследованиях кластогенных эффектов у рабочих нефтехимической [2, 3], металлургической [4–6], теплоэнергетической [7, 8], рудодобывающей [9–11] и других отраслей промышленности.

Среди производств с высокой степенью профессиональных вредностей особое место занимает добыча каменного угля. Работа на угольных шахтах остается одной из самых вредных для здоровья профессий [12, 13]. Она сопряжена с длительным контактом с различными вредными профессиональными факторами, такими как угольная пыль, ПАУ, радиация, влажность, шум, тяжелые металлы [14]. Воздействие этого комплекса факторов приводит к увеличению кластогенных и анеугенных повреждений в лимфоцитах крови работников угольных шахт, регистрируемых с помощью цитогенетических методов учета хромосомных aberrаций, микроядер и других биомаркеров генотоксического эффекта [15–20]. Известно, что генетическая нестабильность напрямую сопряжена с увеличением риска возникновения неоплазий в будущем [21–23], поэтому неудивительно, что в профессиональных когортах шахтеров отмечено увеличение заболеваемости разными формами рака, в частности, раком легкого [24–26]. Помимо этого, шахтерский труд сопряжен с риском возникновения ряда хронических заболеваний сердечно-сосудистой, нервной и дыхательной систем. В частности, легочные заболевания, возникающие вследствие воздействия мелкодисперсной пыли, носят сборное название — пневмокониозы. Антракосиликоз (АС) является фиброзной разновидностью пневмокониоза, вызываемой угольно-породной пылью с высоким содержанием SiO₂ [13]. Показано, что АС ассоциирован с увеличением риска злокачественных новообразований [27].

Несмотря на изученность генотоксических эффектов у работников угледобывающей индустрии, многие вопросы, связанные с оценкой геномной нестабильности в соматических клетках шахтеров, страдающих пневмокониозами, остаются открытыми. В частности, нет сведений о сопоставлении генотоксических эффектов в соматических клетках больных АС, продолжающих работу в условиях угольных шахт, с бывшими шахтерами, прекратившими работу в связи с этим заболеванием.

В этом сообщении впервые представлены результаты изучения биомаркера генотоксического эффекта: микроядер (МЯ) в культурах лимфоцитов крови действующих и бывших шахтеров, страдающих АС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые выборки

Образцы крови были получены от 74 мужчин с диагнозом АС, проходивших плановое диспансерное обследование в отделении профессиональной патологии Кемеровской областной клинической больницы. Из этого числа 14 (18,9 %) мужчин являлись действующими на момент обследования рабочими основных профессий (проходчиками, машинистами горных машин, горными рабочими очистительного забоя, подземными электрослесарями) угольных шахт Кемеровской области. Остальные 60 (81,1 %) пациентов на момент обследования не работали на угледобывающих предприятиях от 1 года до 22 лет, вследствие полученного профессионального легочного заболевания. В качестве групп сравнения были обследованы две когорты: 41 практически здоровый шахтер со стажем подземной работы не менее 10 лет (31 — работали, 10 — не работали на момент обследования), а также 70 мужчин, не имеющих тяжелых хронических заболеваний, не работающих в условиях вредного производства. В табл. 1 сведены данные о возрасте, а также долях курящих пациентов, здоровых шахтеров и контрольных доноров. Все обследованные являлись жителями Кемеровской области, Россия. На каждого участника была заполнена анкета, содержащая данные о хронических заболеваниях, статусе куре-

Таблица 1

Характеристика изученных групп

Группа	n	Возраст, лет		Статус курения, %	
		$\mu \pm SE$	Min–max	Да	Нет
Антракосиликоз:					
• работающие	14	52,1 ± 1,65	41–60	0	100
• неработающие	60	59,8 ± 0,73	48–77	18,3	81,7
• всего	74	58,4 ± 0,76	41–77	14,9	85,1
Здоровые шахтеры:					
• работающие	31	52,0 ± 0,97	38–60	29,0	71,0
• неработающие	10	56,6 ± 1,7	47–65	40,0	60,0
• всего	41	53,1 ± 0,89	38–65	31,7	68,3
Контроль	70	51,1 ± 7,5	40–79	50	50

ния, приеме лекарств, дате последнего рентгенологического обследования, месте работы, профессии и стаже работы. Пациенты, принимавшие лекарства с известными мутагенными эффектами или проходившие рентгенологические обследования за три месяца до сбора крови не были включены в исследование. Все участники были проинформированы о цели, рисках и методологических принципах исследования; информированное согласие было получено от каждого донора. Исследование проводили в соответствии с требованиями Комитета по этике Кемеровского государственного университета.

Анализ микроядер

Культивирование лимфоцитов проводили с использованием стандартного протокола CBMN [28] с небольшими изменениями [29]. В культуральный флакон, содержащий 3,8 мл культуральной среды (среда RPMI-1640 + 20 % сыворотки крупного рогатого скота + 100 ед./мл пенициллина), помещали 0,2 мл цельной крови. Во флаконы добавляли фитогемагглютинин (ПанЭко, Москва) и культивировали в течение 44 ч при температуре 37 °С. Через 44 ч от начала инкубирования в каждую культуру добавляли цитохалазин В (Applichem GmbH) до конечной концентрации 6 мкг/мл и культивировали еще 24 ч при той же температуре. На 72 ч в конце цикла культивирования выполняли фиксацию лимфоцитов. Для префиксации использовали гипотонический раствор KCl, для фиксации — смесь Карнуа (метанол и уксусная кислота в соотношении 3:1). Готовые препараты окрашивали 2 % раствором красителя Гимза. Использовали критерии для оценки цитогенетических повреждений [30, 31]. От каждого обследуемого анализировали суммарно 1500 клеток. Протокол микроядерного анализа включал в себя учет собственно микроядер (доля двуядерных лимфоцитов с МЯ, доля двуядерных лимфоцитов с 1 МЯ, доля двуядерных лимфоцитов с множественными МЯ), ядерных протрузий (хроматиновых телец, выделяющихся из тела ядра, но имеющих с ним связь), нуклеоплазменных мостов, в результате подсчета 1000 двуядерных лимфоцитов. Кроме того, в отдельно анализируемых 500 лимфоцитах подсчитывали частоты клеток на стадии митоза, апоптоза, а также клеток с 1–4 и более ядрами.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA.10 (Statsoft, United States). Оценку количественных показателей осуществляли посредством вычисления средних значений (μ) по общему числу просмотренных лимфоцитов и стандартных ошибок среднего (SE). Сравнение групп осуществляли с помощью рангового *U*-теста Манна–Уитни. Для определения связи между цитогенетическими биомаркерами и другими факторами использовали коэффициент корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения МЯ в лимфоцитах больных АС, здоровых шахтеров и мужчин контрольной группы сведены в табл. 2. Основной показатель микроядерного теста — частота двуядерных клеток, содержащих МЯ, оказался наиболее высоким в выборке шахтеров, страдающих АС ($1,22 \pm 0,05$ %). Он достоверно превысил соответствующие значения для выборок контрольных доноров ($0,85 \pm 0,06$ %; $p < 0,0001$) и здоровых шахтеров ($1,03 \pm 0,07$ %; $p < 0,01$).

Еще один цитогенетический показатель — двуядерные клетки со множественными МЯ, характеризующий клетки с двумя или более повреждениями хромосом, также имел максимальное среднее значение в выборке больных АС ($0,13 \pm 0,02$ %). Однако в этом случае значимость различий была зарегистрирована только при сравнении с выборкой здоровых контрольных доноров ($0,1 \pm 0,02$ %; $p < 0,05$). Частота двуядерных клеток, содержащих нуклеоплазменные мосты, оказалась максимальной в группе здоровых шахтеров ($0,33 \pm 0,04$ %) и достоверно превышала соответствующие значения этого показателя в выборках больных АС ($0,21 \pm 0,03$ %; $p < 0,01$) и контрольных доноров ($0,13 \pm 0,02$ %; $p < 0,0001$). Значимы также оказались различия частот лимфоцитов с нуклеоплазменными мостами при сравнении выборки шахтеров с АС с контролем ($p < 0,001$). Наконец, еще один цитогенетический показатель — доля двуядерных лимфоцитов с ядерными протрузиями — имел практически одинаковые значения в выборках

Таблица 2

Частоты микроядер и других цитогенетических повреждений в лимфоцитах больных антракосиликозом, здоровых шахтеров и мужчин контрольной группы

Показатель	Антракосиликоз, $\mu \pm SE$, %	Здоровые шахтеры, $\mu \pm SE$, %	Контроль, $\mu \pm SE$, %
Всего двуядерных клеток с МЯ	$1,22 \pm 0,05^{***}$	$1,03 \pm 0,07^{##,*}$	$0,85 \pm 0,06$
Двуядерные клетки с множественными МЯ	$0,13 \pm 0,02^*$	$0,12 \pm 0,02^*$	$0,1 \pm 0,02$
Двуядерные клетки с мостами	$0,21 \pm 0,03^{**}$	$0,33 \pm 0,04^{##,***}$	$0,13 \pm 0,02$
Двуядерные клетки с протрузиями	$1,74 \pm 0,1$	$1,31 \pm 0,09^{##}$	$1,71 \pm 0,12$

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$; отличается от значения для группы «Контроль». # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; отличается от значения для группы «Антракосиликоз».

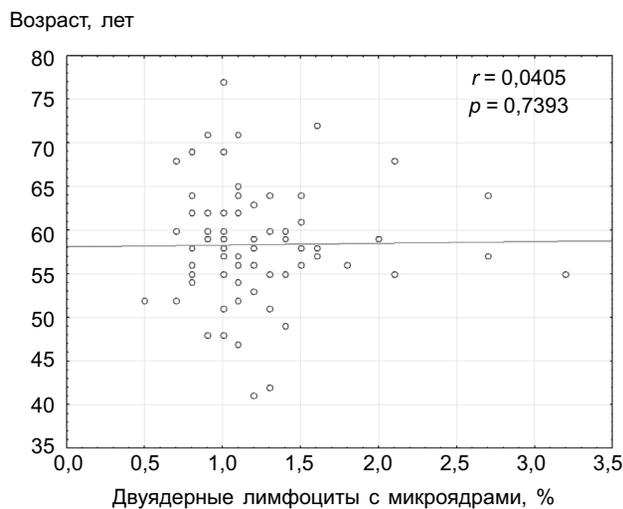


Рис. 1. Корреляция доли лимфоцитов с микроядрами с возрастом в группе шахтеров с антракосиликозом

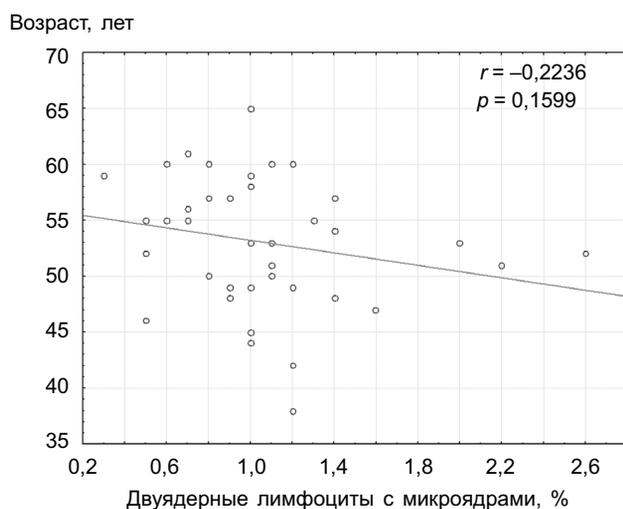


Рис. 2. Корреляция доли лимфоцитов с микроядрами с возрастом в группе здоровых шахтеров

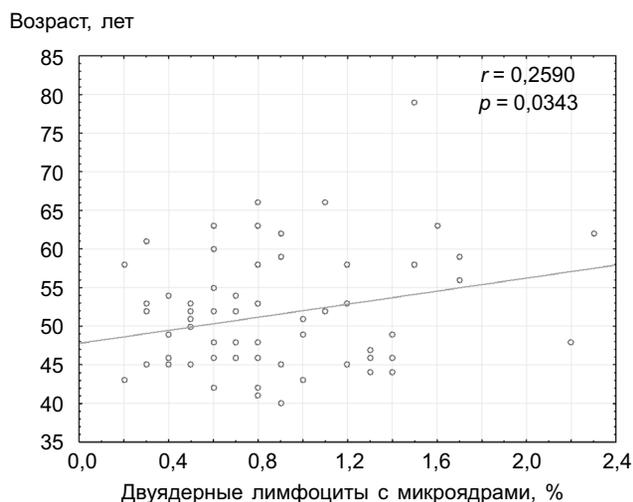


Рис. 3. Корреляция доли лимфоцитов с микроядрами с возрастом в группе контрольных доноров

больных АС и здоровых контрольных доноров ($1,74 \pm 0,1 \%$ и $1,71 \pm 0,12 \%$ соответственно). Лимфоциты здоровых шахтеров содержали значимо меньшее число протрузий ($1,31 \pm 0,09 \%$) по сравнению с шахтерами, страдающими легочной патологией ($p < 0,01$).

Результаты сопоставления показателей микроядерного теста, характеризующих пролиферативную активность, а также и частот клеток, находящихся на стадии митоза и апоптоза сведены в табл. 3. Анализ долей клеток, содержащих разное число ядер, убедительно показывает, что лимфоциты шахтеров (здоровых и больных АС) имеют существенно меньшую пролиферативную способность в ответ на стимуляцию фитогемагглютинином по сравнению с клетками контрольных доноров. Доля клеток, находящихся на стадии митоза, также оказалась максимальной в контрольной выборке ($3,36 \pm 0,14 \%$) и достоверно превысила соответствующие значения в группах здоровых шахтеров ($2,56 \pm 0,12 \%$; $p < 0,0001$) и больных АС ($2,78 \pm 0,13 \%$; $p < 0,0001$). Наконец, доля клеток с фенотипом апоптоза также существенно превысила значение в выборке здоровых контрольных доноров по сравнению как со здоровыми, так и с больными шахтерами (см. табл. 3).

Возможная связь генотоксических эффектов с возрастом была оценена с помощью корреляционного анализа (рис. 1–3). Коэффициенты корреляции Спирмена для частот основного цитогенетического показателя — числа двоядерных лимфоцитов с микроядрами — с возрастом для выборок больных АС и здоровых шахтеров не были значимыми ($p > 0,05$). В группе здоровых доноров обнаружено увеличение частоты микроядер с возрастом ($p = 0,034$).

Результаты сопоставления частот микроядер в подгруппах шахтеров и контрольных доноров, различающихся по статусу курения, сведены в табл. 4. Показано отсутствие различий по показателю частоты лимфоцитов с микроядрами между курящими и некурящими здоровыми шахтерами и контрольными донорами. В выборке шахтеров с АС наблюдается уменьшение доли лимфоцитов с микроядрами у курящих ($0,96 \pm 0,08 \%$) по сравнению с некурящими ($1,27 \pm 0,06 \%$; $p < 0,0001$).

Сравнение цитогенетических параметров микроядерного теста в подгруппах работающих и неработающих шахтеров представлено в табл. 5. Достоверных различий между подгруппами не выявлено как в выборке здоровых шахтеров, так и у шахтеров с АС ($p > 0,05$). Этот факт позволяет заключить, что генотоксические эффекты в лимфоцитах шахтеров способны сохраняться длительное время уже после прекращения экспозиции неблагоприятными факторами угледобывающего производства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные о значимом увеличении уровня цитогенетических повреждений (МЯ) у здоровых

Таблица 3

Результаты оценки пролиферативной активности и частоты клеток, находящихся на стадии митоза и апоптоза

Показатель		Антракосиликоз, $\mu \pm SE$, %	Здоровые шахтеры, $\mu \pm SE$, %	Контроль, $\mu \pm SE$, %
Клеток с различным количеством ядер, %	1	33,07 \pm 1,46***	38,34 \pm 1,41###,***	25,71 \pm 1,49
	2	48,42 \pm 1,17**	43,92 \pm 0,91###,***	52,9 \pm 1,29
	>2	15,71 \pm 0,8*	13,73 \pm 0,7**	19,58 \pm 1,03
Митоз, %		2,78 \pm 0,13**	2,56 \pm 0,12***	3,36 \pm 0,14
Апоптоз, %		1,62 \pm 0,14**	1,58 \pm 0,15*	2,34 \pm 0,19

Примечание. * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$; отличается от значения для группы «Контроль». # $p < 0,05$; ### $p < 0,01$; отличается от значения для группы «Антракосиликоз».

Таблица 4

Уровень генетических повреждений в лимфоцитах шахтеров и контрольных доноров в зависимости от курения

Группа		Антракосиликоз		Здоровые шахтеры		Контроль	
		n	Доля лимфоцитов с микроядрами, $\mu \pm SE$, %	n	Доля лимфоцитов с микроядрами, $\mu \pm SE$, %	n	Доля лимфоцитов с микроядрами, $\mu \pm SE$, %
Курение	«Да»	11	0,96 \pm 0,08*	13	1,13 \pm 0,2	35	0,87 \pm 0,08
	«Нет»	63	1,27 \pm 0,06	28	0,99 \pm 0,05	35	0,83 \pm 0,08

Примечание. * $p < 0,001$; отличается от значения для группы «Некурящие».

Таблица 5

Уровень генетических повреждений в лимфоцитах работающих и неработающих шахтеров

Показатель	Антракосиликоз (работают), $\mu \pm SE$, %	Антракосиликоз (не работают), $\mu \pm SE$, %	Здоровые шахтеры (работают), $\mu \pm SE$, %	Здоровые шахтеры (не работают), $\mu \pm SE$, %
Всего двуядерных клеток с микроядрами	1,22 \pm 0,17	1,23 \pm 0,06	1,0 \pm 0,07	1,15 \pm 0,2
Двуядерные клетки с одним микроядром	1,06 \pm 0,14	1,1 \pm 0,05	0,88 \pm 0,06	0,99 \pm 0,17
Двуядерные клетки со множественными микроядрами	0,16 \pm 0,04	0,13 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02	0,16 \pm 0,05
Двуядерные клетки с мостами	0,22 \pm 0,05	0,21 \pm 0,04	0,31 \pm 0,04	0,4 \pm 0,09
Двуядерные клетки с протрузиями	1,89 \pm 0,34	1,7 \pm 0,1	1,34 \pm 0,11	1,2 \pm 0,14
Одноядерные клетки с микроядрами	0,16 \pm 0,05	0,29 \pm 0,05	0,16 \pm 0,06	0,12 \pm 0,08

шахтеров по сравнению со здоровыми контрольными донорами согласуются с результатами других авторов, исследовавших генотоксические эффекты в лимфоцитах работников угледобывающей индустрии [15–20]. В частности, использование микроядерного теста в культуре лимфоцитов с блоком цитокинеза позволило сопоставить уровень МЯ в выборках из 143 угольных шахтеров и 127 контрольных мужчин — доноров [19]. Авторы зарегистрировали достоверное увеличение МЯ в когорте здоровых шахтеров по сравнению с контролем: доли двуядерных лимфоцитов с МЯ (1,12 против 0,75); двуядерных лимфоцитов с нуклеоплазменными мостами (0,4 против 0,24). Кроме того, в выборке шахтеров, как и в нашем случае, было отмечено явное снижение пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на стимуляцию деления митогеном. Этот факт подтверждает положение о том, что воздействие факторов угледобывающего производства

приводит как к генотоксическим, так и цитостатическим эффектам. Несоответствие полученных нами результатов и данных, приведенных в цитируемой работе [19], касается сопоставления частот клеток, находящихся на стадии апоптоза. Так, доли клеток с фенотипом апоптоза в цитируемой публикации составили у шахтеров и контрольных доноров 1,71 и 1,34 % соответственно ($p > 0,05$), тогда как в нашем исследовании соответствующие частоты значительно различались — 1,58 и 2,34 % ($p < 0,01$). В целом, анализируя данные других авторов, изучавших генотоксические эффекты в лимфоцитах угольных шахтеров с помощью микроядерного теста [15, 17, 19], следует отметить однонаправленность результатов, свидетельствующих о значимом увеличении частот МЯ в профессиональных когортах. Важным является также тот факт, что возраст и статус курения значимо не влияли на частоту МЯ в лимфоцитах здоровых шахтеров, как и в нашем исследовании.

К настоящему времени лишь в единичных публикациях профессиональные заболевания шахтеров были рассмотрены как кофакторы индукции генетической нестабильности [31, 32]. Вместе с тем, в публикациях последнего времени есть сообщения о том, что многие болезни опухолевого и неопухолевого генеза сопровождаются повышением базового уровня повреждений ДНК и цитогенетических нарушений, регистрируемых в соматических клетках первичных (не подвергавшихся терапии) больных [33–37]. Высказаны разные предположения о причинах, приводящих к увеличению генотоксических эффектов у больных, но основные версии заключаются в малой эффективности систем репарации ДНК, клеточном старении [38], воспалении и оксидативном стрессе [39, 40]. Так как эти процессы взаимосвязаны, имеется вероятность, что все они играют определенную роль в развитии генотоксического стресса при патологии [41].

Сопоставление частот цитогенетических повреждений в лимфоцитах здоровых и больных АС угольных шахтеров показало, что у последних наблюдается статистически значимое увеличение частоты двуядерных лимфоцитов с МЯ (см. табл. 2). При этом показатели пролиферативной активности и частоты клеток, находящихся на стадии митоза и апоптоза не различались в выборках здоровых и больных шахтеров. В литературе имеется единственная публикация, содержащая результаты, сопоставимые с нашими данными. О.С. Ulker et al. использовали микроядерный тест в культурах лимфоцитов с блоком цитокиназа для оценки уровня повреждений ДНК у 23 пациентов с пневмокозиозом, 29 здоровых шахтеров и 29 контрольных доноров [31]. По данным этих авторов, частота лимфоцитов с МЯ составила в группе пациентов 0,88 % и достоверно превысила соответствующее значение для выборки здоровых шахтеров (0,46 %, $p < 0,01$). Ни в одной из сравниваемых групп не было выявлено влияния возраста и статуса курения на частоту МЯ. Мы также не зарегистрировали изменения частоты цитогенетических повреждений, связанного с возрастом больных АС. Что касается обнаруженного нами снижения частоты МЯ у курящих пациентов с АС по сравнению с некурящими, то значимость этого различия может быть мизерной, так как число обследованных пациентов с АС, имеющих данную вредную привычку, составило всего 11 человек.

Наиболее вероятной причиной увеличения цитогенетических повреждений, наблюдаемого в лимфоцитах больных АС, может быть воздействие хронического воспалительного процесса и снижение легочной функции. Известно, что индуцированный угольной пылью легочный фиброз сопровождается хроническим воспалением, которое, в свою очередь, обеспечивает образование свободных радикалов и развитие окислительного стресса. Таким образом, именно оксидативное повреждение ДНК с наибольшей вероятностью является ведущей причиной дополнительных генотоксических эффектов, выявленных в лимфоцитах шахтеров, страдающих АС.

Исходя из особенностей профессионального статуса обследуемых шахтеров (действующие или бывшие на момент обследования), нам впервые удалось сопоставить соответствующие подгруппы больных АС и здоровых шахтеров по уровню цитогенетических повреждений (см. табл. 5). Отсутствие каких-либо различий по любому из показателей микроядерного теста между работающими и бывшими угольщиками, вероятно, свидетельствует о том, что в процессе длительной экспозиции факторами угледобывающего производства (прежде всего, мелкодисперсными фракциями угольной пыли) шахтеры получают дозу токсических (в том числе мутагенных) соединений. Эти компоненты угольной пыли длительное время способны сохраняться в организме (например, в легких) и вызывать генотоксический эффект даже спустя многие годы после прекращения работы в шахте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, представленные в этом сообщении, позволяют заключить, что на целостность генома работников угольных шахт значимое воздействие могут оказывать как неблагоприятные условия производственной среды, так и наличие профессионального легочного заболевания — АС. Не менее важным выводом является тот факт, что генотоксические эффекты в лимфоцитах здоровых и больных АС шахтеров способны сохраняться длительное время уже после прекращения экспозиции неблагоприятными факторами угледобывающего производства. По сути это означает необходимость пожизненной профилактики мутагенеза для этой категории работников угольных шахт, безусловно входящих в группу риска развития злокачественных новообразований.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-14-00022.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абилов С.К., Глазер В.М. Мутагенез с основами генотоксикологии: учебное пособие. — М.; СПб.: Нестор-История, 2015. [Abilev SK, Glazer VM. Mutagenesis s osnovami genotoksikologii: uchebnoye posobie. Moscow—Saint Petersburg: Nestor-Istoriya; 2015. (In Russ.)]
2. Kim YJ, Choi JY, Paek D, Chung HW. Association of the NQO1, MPO, and XRCC1 polymorphisms and chromosome damage among workers at a petroleum refinery. *J Toxicol Environ Health A*. 2008;71(5):333-341. doi: 10.1080/15287390701738558.
3. Angelini S, Bermejo JL, Ravegnini G, Sammarini G, Hrelia P. Application of the lymphocyte Cytokinesis-Block Micronucleus Assay to populations exposed to petroleum and its derivatives: Results from a systematic review and meta-analysis. *Mutat Res*. 2016;770(Pt A):58-72. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.03.001.
4. Cameron KS, Buchner V, Tchounwou PB. Exploring the molecular mechanisms of nickel-induced genoto-

- xicity and carcinogenicity: a literature review. *Rev Environ Health*. 2011; 26(2):81-92.
5. De Olivera JV, Boufleur LA, Dos Santos CE, et al. Occupational genotoxicity among copper smelters. *Toxicol Ind Health*. 2012;28(9):789-795. doi: 10.1177/0748233711422735.
 6. Junaid M, Hashmi MZ, Malik RN, Pei DS. Toxicity and oxidative stress induced by chromium in workers exposed from different occupational settings around the globe: A review. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016;23(20):20151-20167. doi: 10.1007/s11356-016-7463-x.
 7. Celik M, Donbak L, Unal F, et al. Cytogenetic damage in workers from a coal-fired power plant. *Mutat Res*. 2007;627(2):158-163. doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.11.003.
 8. Савченко Я.А., Минина В.И., Баканова М.Л. Хромосомные aberrации и полиморфизм генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и репарации ДНК у работников теплоэнергетики // Гигиена и санитария. — 2012. — № 6. — С. 73–75. [Savchenko YaA, Minina VI, Bakanova ML. Chromosomal aberrations and genetic polymorphism in genes of the xenobiotic detoxification and DNA repair enzymes in thermoelectric power plant employers. *Gig Sanit*. 2012;(6):73-75. (In Russ.)].
 9. Wolf G, Arndt D, Kotschy-Lang N, Obe G. Chromosomal aberrations in uranium and coal miners. *Int J Radiat Biol*. 2004;80(2):147-153. doi: 10.1080/09553000310001621446.
 10. Bilban M, Jakopin CB. Incidence of cytogenetic damage in lead-zinc mine workers exposed to radon. *Mutagenesis*. 2005;20(3):187-191. doi: 10.1093/mutage/gei024.
 11. Zölzer F, Havránková R, Freitinger Skalická Z, et al. Analysis of genetic damage in lymphocytes of former uranium processing workers. *Cytogenet Genome Res*. 2015;147(1):17-23. doi: 10.1159/000441889.
 12. Graber JM, Stayner LT, Cohen RA, et al. Respiratory disease mortality among US coal miners; results after 37 years of follow-up. *Occup Environ Med*. 2014;71(1): P. 30-39. doi: 10.1136/oemed-2013-101597.
 13. Beer C, Kolstad HA, Søndergaard K, et al. A systematic review of occupational exposure to coal dust and the risk of interstitial lung diseases. *Eur Clin Respir J*. 2017;4(1): 1264711. doi: 10.1080/20018525.2017.1264711.
 14. Трубицин А.А., Фомин А.И., Сурков Н.И., Ермаков А.Ю. Оценка значимости вредных производственных факторов на профессиональную заболеваемость в угольной отрасли // Вестник Кузбасского государственного технического университета. 2006. — № 2. — С. 32–38. [Trubicin AA, Fomin AI, Surkov NI, Ermakov AYU. Ocenka znachimosti vrednyh proizvodstvennyh faktorov na professional'nyu zabolevaemost' v ugol'noj otrasli. *Vestnik kuzbasskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*. 2006;(2):32-38. (In Russ.)].
 15. Donbak L, Rencuzogullar E, Yavuz A, Topaktas M. The genotoxic risk of underground coal miners from Turkey. *Mutat Res*. 2005;588(2):82-87. doi: 10.1016/j.mrgentox.2005.08.014.
 16. Kvitko K, Bandinelli E, Henriques JA, et al. Susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides, to tannery chemicals and to coal dust during mining. *Genet Mol Biol*. 2012;35(4)(suppl.):1060-1068.
 17. Rohr P, Kvitko K, da Silva FR, et al. Genetic and oxidative damage of peripheral blood lymphocytes in workers with occupational exposure to coal. *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013;758(1-2):23-28. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.08.006.
 18. León-Mejía G, Quintana M, Debastiani R, et al. Genetic damage in coal miners evaluated by buccal micronucleus cytome assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2014;107:133-139. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.05.023.
 19. Sinitsky MY, Minina VI, Gafarov NI, et al. Assessment of DNA damage in underground coal miners using the cytokinesis-block micronucleus assay in peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2016;31(6):669-75. doi: 10.1093/mutage/gew038.
 20. da Silva Júnior F, Tavella RA, Fernandes C, et al. Genotoxicity in Brazilian coal miners and its associated factors. *Hum Exp Toxicol*. 2018;37(9):891-900. doi: 10.1177/0960327117745692.
 21. Hagmar L, Stromberg U, Bonassi S, et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts. *Cancer Res*. 2004;64(6):2258-2263. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3360.
 22. Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis*. 2011; 26(1):93-100. doi: 10.1093/mutage/geq075.
 23. Vodenkova S, Polivkova Z, Musak L, et al. Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. *Mutagenesis*. 2015;30(4):557-563. doi: 10.1093/mutage/gev018.
 24. Hosgood HD, Chapman RS, Wei H, et al. Coal mining is associated with lung cancer risk in Xuanwei, China. *Am J Ind Med*. 2012;55(1):5-10. doi: 10.1002/ajim.21014.
 25. Taeger D, Pesch B, Kendzia B, et al. Lung cancer among coal miners, ore miners and quarrymen: smoking-adjusted risk estimates from the synergy pooled analysis of case-control studies. *Scand J Work Environ Health*. 2015;41(5):467-477. doi: 10.5271/sjweh.3513.
 26. Sodhi-Berry N, Reid A, Fritschi L, et al. Cancer incidence in the Western Australian mining industry (1996–2013). *Cancer Epidemiol*. 2017;49:8-18. doi: 10.1016/j.canep.2017.05.001.
 27. Tomaskova H, Jirak Z, Splichalova A, Urban P. Cancer incidence in Czech black coal miners in association with coal workers' pneumoconiosis. *Int J Occup Med*

- Environ Health*. 2012; 25(2):137-144. doi: 10.2478/S13382-012-0015-9.
28. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007;5:1084-1104. doi: 10.1038/nprot.2007.77.
29. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res*. 2003; 534(1-2):65-75.
30. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 1: пролиферация клеток // Экологическая генетика. 2006. Т. 4. № 3. С. 7–19. [Ingel FI. Perspectives of micronuclear test in human lymphocytes cultivated in cytogenetic block conditions. Part 1: Cell proliferation. *Ecol. Genet*. 2006;(4):7-19. (In Russ.)].
31. Ulker OC, Ustundag A, Duydu Y, et al. Cytogenetic monitoring of coal workers and patients with coal workers' pneumoconiosis in Turkey. *Environ Mol Mutagen*. 2008; 49(3):232-237. doi: 10.1002/em.20377.
32. Volobaev VP, Sinitsky MY, Larionov AV, et al. Modifying influence of occupational inflammatory diseases on the level of chromosome aberrations in coal miners. *Mutagenesis*. 2016;31(2):225-229. doi: 10.1093/mutage/gev080.
33. Cottliar AS, Fundia AF, Morán C, et al. Evidence of chromosome instability in chronic pancreatitis. *J Exp Clin Cancer Res*. 2000. 19(4):513-517.
34. Vodicka P, Polivkova Z, Sytarova S, et al. Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of newly diagnosed cancer patients and healthy controls. *Carcinogenesis*. 2010; 31(7):1238-1241. doi: 10.1093/carcin/bgq056.
35. Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, et al. The HUMAN Micro-Nucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res*. 2011;728(3):88-97. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.06.005.
36. Lloyd SM, Lopez M, El-Zein R. Cytokinesis-blocked micronucleus cytome assay and spectral karyotyping as methods for identifying chromosome damage in a lung cancer case-control population. *Genes Chromosomes Cancer*. 2013;52(7):694-707. doi: 10.1002/gcc.22065.
37. Vodenkova S, Polivkova Z, Musak L, et al. Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. *Mutagenesis*. 2015;30(4):557-563. doi: 10.1093/mutage/gev018.
38. Kumar M, Seeger W, Voswinkel R. Senescence-associated secretory phenotype and its possible role in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;51(3):323-333. doi: 10.1165/rcmb.2013-0382PS.
39. Chao MR, Rossner P, Jr., Haghdoost S, et al. Nucleic acid oxidation in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2013. 2013: 368651. doi: 10.1155/2013/368651.
40. Torres-Bugarín O, Macriz Romero N, Ramos Ibarra ML, et al. Genotoxic Effect in Autoimmune Diseases Evaluated by the Micronucleus Test Assay: Our Experience and Literature Review. *Biomed Res Int*. 2015;194031. doi: 10.1155/2015/194031.
41. McMurray CT, Vijg J. Editorial overview: Molecular and genetic bases of disease: the double life of DNA. *Curr Opin Genet Dev*. 2014.26:5-7. doi: 10.1016/j.gde.2014.09.002.

✿ Информация об авторах

Владимир Геннадьевич Дружинин — д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой генетики. Кемеровский государственный университет, Кемерово. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru.

Светлана Вячеславовна Апалько — канд. биол. наук, начальник сектора биобанкирования и трансляционной медицины. СПбГБУЗ «Городская больница № 40» Курортного района, Санкт-Петербург. E-mail: svetlana.apalko@gmail.com.

Елизавета Дмитриевна Баранова — студентка. Кемеровский государственный университет, Кемерово. E-mail: laveivana@mail.ru.

Валентин Павлович Волобаев — мл. научный сотрудник, кафедра генетики. Кемеровский государственный университет, Кемерово. E-mail: volobaev.vp@gmail.com.

Татьяна Юрьевна Дробчик — канд. хим. наук, доцент, кафедра генетики. Кемеровский государственный университет, Кемерово. E-mail: belayad@ngs.ru.

Алексей Викторович Ларионов — канд. биол. наук, доцент, кафедра генетики. Кемеровский государственный университет, Кемерово. E-mail: alekseylarionov09@gmail.com.

Елена Г. Хиль — врач. ГАУЗ Кемеровской области «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru.

Елена Владимировна Часовских — врач. ГАУЗ Кемеровской области «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru.

✿ Authors and affiliations

Vladimir G. Druzhinin — Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Genetics. Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: elenashaikevich@mail.ru.

Svetlana V. Apalko — Candidate of Biological Sciences, Head of Biobanking and Translational Medicine. City Hospital No. 40, St. Petersburg, Russia. E-mail: svetlana.apalko@gmail.com.

Elizaveta D. Baranova — Student. Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: laveivana@mail.ru.

Valentin P. Volobaev — Junior Researcher, Department of Genetics. Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: volobaev.vp@gmail.com.

Tatiana Yu. Drobchik — Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Genetics. Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: belayad@ngs.ru.

Aleksey V. Larionov — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Genetics. Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: alekseylarionov09@gmail.com.

Elena G. Hill — Doctor. S.V. Belyaev Clinical Hospital. Kemerovo, Russia. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru.

Elena V. Chasovskikh — Doctor. S.V. Belyaev Clinical Hospital. Kemerovo, Russia. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru.