Т.В. Харченко^{1,2}, Л.Г. Аржавкина¹, А.В. Язенок¹,
Д.А. Синячкин¹, А.Н. Жекалов¹,
Ю.Б. Говердовский¹, А.С. Крючкова²

Цитогенетические изменения как один из дополнительных маркеров риска заболеваемости у военнослужащих, задействованных на объектах хранения и уничтожения химического оружия

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Резюме. Проанализированы риски заболеваемости у 138 военнослужащих объектов хранения и уничтожения химического оружия с различным уровнем хромосомных aberrаций. Контрольную группу составили 55 военнослужащих, не имевших каких-либо контактов с токсичными химикатами. У военнослужащих, задействованных в хранении и уничтожении химического оружия, выявлен повышенный уровень хромосомных aberrаций ($5,10 \pm 0,29$ против $1,67 \pm 0,21$ контрольной группы, $U=1471$; $p=0,0001$). При этом наблюдался широкий разброс индивидуальных показателей (от 0 до 15 aberrаций на 100 клеток). Военнослужащие с уровнем aberrаций свыше 5 на 100 клеток имели высокий риск наличия заболеваний, требующих госпитализации для вынесения решения о годности к работе с токсичными химикатами (RR 1,4; 95% доверительный интервал 1,09; 1,85). В 34,5% случаев у них диагностирована полиневропатия, у 20,9% – нейроциркуляторная астения против 12,5 и 7,5% военнослужащих с уровнем aberrаций менее 5 на 100 клеток ($p=0,02$). Риск возникновения этих заболеваний составил соответственно 2,76 (95% доверительный интервал 1,39; 5,44) и 2,69 (95% доверительный интервал 1,07; 6,74). В отношении полиневропатии этот факт представляется особенно важным, поскольку данная нозологическая форма признана патогномоничной по отношению к фосфорорганическим отравляющим веществам. Показано, что цитогенетическое обследование может быть использовано для оценки риска развития профессиональных заболеваний у военнослужащих объектов хранения и уничтожения химического оружия. Повышение заболеваемости в группе с высоким уровнем хромосомных aberrаций позволяет предположить, что генотоксические эффекты играют важную роль в возникновении заболеваний, этиологически связанных с воздействием факторов объектов хранения и уничтожения химического оружия.

Ключевые слова: химическое оружие, отравляющие вещества, генотоксичность, цитогенетические исследования, хромосомные aberrации, риск для здоровья, полиневропатия, нейроциркуляторная астения.

Введение. Процесс уничтожения химического оружия (ХО) в России вступил в завершающую фазу, при этом обеспечение безопасности остается одной из приоритетных задач, составной частью которой является оценка воздействия условий труда на состояние здоровья военнослужащих объектов хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО).

На ОХУХО действует комплекс вредных производственных факторов, как общепромышленных, так и специфических, ведущим из которых признан химический. Из-за проявления синергизма эффект совместного действия различных агентов не является простой суммой эффектов, наблюдаемых при их изолированном воздействии, что существенно снижает ценность токсикометрических данных, полученных применительно к одному токсиканту. Кроме того, при оценке риска нельзя не принимать во внимание существующие технические сложности и высокую биологическую активность мониторируемых веществ [6].

Проблема индивидуальной восприимчивости к действующим факторам, многофакторность экзогенных и эндогенных воздействий делает насущной задачей поиск маркеров, устанавливающих взаимосвязь профессионально обусловленной заболеваемости и потенциально опасных факторов ОХУХО.

Одним из таких маркеров может стать степень мутагенной нагрузки на персонал. Некоторые из неблагоприятных факторов, действующих на ОХУХО, вызывают изменения в генетическом аппарате соматических клеток. При этом накопление мутаций в соматических клетках считается одним из механизмов развития заболеваний в условиях воздействия профессиональных вредностей.

Существуют данные, позволяющие считать перспективным внедрение в практику оценки опасности воздействия производственных факторов на персонал ОХУХО методов генетического биомониторинга [5, 9, 10, 12].

Основным способом оценки мутагенной нагрузки является анализ нестабильных хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах периферической крови [2].

Цель исследования Оценить генотоксическое действие комплекса факторов ОХУХО и проанализировать возможную связь изменения цитогенетических показателей с риском возникновения негативных последствий для здоровья персонала.

Материалы и методы. Цитогенетическому обследованию было подвергнуто 138 военнослужащих ОХУХО, в возрасте от 22 до 48 лет. Все они были освидетельствованы военно-врачебной комиссией,

созданной из специалистов Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (ВМА), с проведением необходимых лабораторных исследований.

Данные по заболеваемости военнослужащих ОХУХО, выявленной при ежегодном медицинском освидетельствовании, проводимом для определения категории годности к службе с токсичными химикатами, относящимися к ХО, приводятся на основе учетных документов научно-исследовательского отдела (Всеармейский медицинский регистр Министерства обороны Российской Федерации) научно-исследовательского центра ВМА.

Контрольную группу составили 55 сопоставимых по возрасту военнослужащих, проживающих на территориях, не имеющих предприятий по переработке и уничтожению химического оружия, не работавших с токсичными химикатами или с источниками ионизирующего излучения.

Для цитогенетического обследования кровь брали из локтевой вены в стерильные вакутейнеры с гепарином. Культивирование лимфоцитов периферической крови и получение препаратов метафазных хромосом осуществляли по стандартной методике [3] с собственными модификациями [8]. На каждого обследованного ставили две параллельные пробы.

Полученные препараты шифровали и анализировали с помощью светового микроскопа фирмы «Leica» (Германия) под иммерсией при увеличении 100×10 . От каждого человека было проанализировано от 100 до 200 метафазных пластинок (среднее число метафаз на человека $165,2\pm 4,78$).

Результаты выражены в количестве ХА на 100 клеток. В соответствии с методическими указаниями Всемирной организации здравоохранения [2] анализировали все виды хромосомных aberrаций, распознаваемые без кариотипирования.

Математическая обработка данных производилась при помощи пакета прикладных программ Statistica for Windows, версия 6.0. Все оценки групповых частот aberrаций были получены в результате усреднения индивидуальных частот, соответствующие ошибки отражали групповую изменчивость частот aberrаций. Для обработки данных использовались непараметрические методы, принятые в популяционных цитогенетических исследованиях: для оценки статистической значимости различий частоты ХА применялся критерий Манна – Уитни; значимость различия частот заболеваемости в различных группах определяли с помощью точного критерия Фишера. Для оценки величины различий вычисляли относительный риск (RR). Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что уровень ХА у персонала ОХУХО статистически значимо превышал контрольные значения, составив $5,10\pm 0,29$ против $1,67\pm 0,21$ ($U=1471$; $p=0,0001$). В целом группа характеризовалась широким спектром выявленных aberrаций как хромосомного, так и хроматидного типа. При высоком общем уровне ХА в группе в военнослужащих ОХУХО наблюдался достаточно сильный

разброс индивидуальных показателей частоты ХА (от 0 до 15 aberrаций на 100 клеток).

Максимально возможным уровнем для спонтанного мутационного процесса считаются 2,5 ХА на 100 клеток [7, 14]. Дальнейшее увеличение числа ХА может быть обусловлено лишь воздействием повреждающих факторов внешней среды. Пороговой величиной, значимо связанной с возникновением последствий для здоровья, принято считать уровень ХА 5 и более на 100 клеток. Превышение этого количества ХА, по результатам масштабных популяционных исследований, ассоциировано с возникновением онкологических заболеваний [11]. При этом показано, что риск здоровью не зависит от природы мутагенного фактора, вызывающего ХА [13]. По рекомендациям, принятым для радиохимических предприятий [4], лица с превышением уровня ХА свыше 5 на 100 клеток нуждаются в индивидуальных профилактических мероприятиях антимутогенного характера с подбором соответствующих радиопротекторов.

Сотрудники «Научно-исследовательского института гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства России, одним из основных направлений деятельности которого является проведение экспертизы по установлению причинно-следственной связи заболеваний работников объектов по уничтожению фосфорорганических отравляющих веществ, разработали классификацию реального риска здоровью населения, проживающего вблизи химических объектов. По данной классификации более чем трехкратное превышение контрольного уровня генетических нарушений принимается показателем очень высокого относительного риска здоровью [6]. В нашем случае трехкратное превышение контрольного уровня составляет 5,1 ХА на 100 клеток, что совпадает со значением пороговой величины ХА.

Для проверки гипотезы, является ли уровень свыше 5% ХА значимым для увеличения риска заболеваемости у военнослужащих ОХУХО, всех обследованных разделили на 2 группы: с уровнем ХА выше и ниже 5 на 100 клеток. Уровень ниже 5 ХА на 100 клеток имели 80 военнослужащих, у 58 военнослужащих этот порог был превышен. Установлено, что частота ХА более 5 на 100 клеток значимо ($p=0,007$) увеличивает относительный риск наличия заболеваний, являющихся значимыми при оценке причинной связи с воздействием токсических химикатов, относящихся к ХО и требующих дополнительного стационарного обследования для вынесения решения о годности к работе с токсичными химикатами (RR 1,4; 95% доверительный интервал 1,09; 1,85).

При анализе частоты возникновения отдельных нозологических форм в группах с различным уровнем ХА значимая связь была выявлена только для полиневропатии и нейроциркуляторной астении. Так, у военнослужащих, имеющих индивидуальный уровень ХА свыше 5 на 100 клеток, диагноз полиневропатия был поставлен 20 (34,5%) военнослужащим. В группе лиц с уровнем ХА менее 5 на 100 клеток полиневропатия была выявлена лишь у 10 (12,5%) человек. Нейроциркуляторная астения у военнослужащих, имеющих индивидуальный уро-

вень ХА свыше 5 на 100 клеток, диагностирована у 12 (29,9%) человек. У военнослужащих с уровнем меньше 5 ХА на 100 клеток этот диагноз имели 6 (7,5%) человек.

Относительный риск развития полиневропатии и нейроциркуляторной астении в группе военнослужащих с уровнем свыше 5 ХА на 100 клеток составил 2,76 (95% доверительный интервал 1,39; 5,44) и 2,69 (95% доверительный интервал 1,07; 6,74), соответственно. Подобный уровень относительного риска является высоким по степени причинно-следственной связи нарушения здоровья.

Заключение. Установлено, что у персонала ОХУХО уровень ХА статистически значимо превышает контрольные значения, причем при высоком среднегрупповом уровне ХА наблюдался широкий индивидуальный разброс показателей. Уровень ХА свыше 5 на 100 клеток является значимым фактором риска для здоровья. Это проявляется в статистически значимом ($p=0,007$) увеличении доли лиц с высоким уровнем ХА среди военнослужащих, нуждающихся в дополнительном стационарном обследовании, а также повышении частоты возникновения полиневропатии и нейроциркуляторной астении в данной группе. В отношении полиневропатии этот факт представляется особенно важным, поскольку данная нозологическая форма признана патогномичной по отношению к фосфорорганическим ОВ. Полагаем, что генотоксические эффекты играют важную роль в возникновении заболеваний, этиологически связанных с воздействием факторов ОХУХО.

Литература

1. Гайнуллина, Э.Т. Потенцирующий синергизм ксенобиотиков – как негативный фактор в системе обеспечения безопасности экологии / Э.Т. Гайнуллина [и др.] // Теор. и прикладная экология. – 2013. – № 4. – С. 70–75.
2. Руководство по изучению генетических эффектов в популяции человека / Гигиенические критерии состояния окружающей среды. – 1989. – Вып. 45. – 121 с.
3. Мак-Грегор, М. Методы работы с хромосомами животных / М. Мак-Грегор, Дж. Варли. – М.: Мир, 1985. – 347 с.
4. Назаренко, С.А., Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье / С.А. Назаренко [и др.]. – Томск: Печатная мануфактура, 2004. – 272 с.
5. Пименова, М.Н. Использование генетических методов исследования в оценке состояния здоровья на донологическом уровне у лиц, имеющих профессиональный контакт с химическими соединениями (собственные и литературные данные) / М.Н. Пименова // Решение проблемы обеспечения химической безопасности в Российской Федерации: сб. тр. науч. конф. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2012. – С. 515–536.
6. Рембовский, В.Р. Анализ риска в системе мониторинга воздействия химического фактора / В.Р. Рембовский, Л.А. Могиленкова, Е.В. Олейникова. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014. – 304 с.
7. Севаньяев, А.В. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях / А.В. Севаньяев [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 1. – С. 5–24.
8. Удостоверение на рационализаторское предложение № 12107/4. Способ приготовления препаратов метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови / Т.В. Харченко, Л.Г. Аржавкина. – М.: МО РФ. – 2010.
9. Чупис, В.Н. Система экологического мониторинга объектов уничтожения химического оружия. Опыт эксплуатации и основные направления развития / В.Н. Чупис // Теор. и прикладная экология. – 2010. – № 3. – С. 27–34.
10. Янно, Л.В. Медицинские аспекты оценки состояния здоровья лиц, занятых на объектах хранения и уничтожения химического оружия / Л.В. Янно, Т.А. Конева, А.Н. Федорченко // Тез. юбил. науч. конф., посвящ. 40-летию ФГУП НИИГТФ ФМБА России. – Волгоград: Панорама, 2011. – С. 37–40.
11. Boffetta, P. Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe / P. Boffetta [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2007. – Vol. 165, № 1. – P. 36–43.
12. Takafumi, O. In vitro cytotoxic and genotoxic effects of diphenylarsinic acid, a degradation product of chemical warfare agents / O. Takafumi [et al.] // Toxicol. and Appl. Pharmacol. – 2004. – Vol. 200, № 1. – P. 64–72.
13. Rossner, P. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer / P. Rossner [et al.] // Environ. Health Perspect. – 2005. – Vol. 113, № 5. – P. 517–520.
14. Wang, Y. Biomarkers of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes induced by polycyclic aromatic hydrocarbons: a meta-analysis / Y. Wang [et al.] // Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 2012. – Vol. 85, № 1. – P. 13–25.

T.V. Kharchenko, L.G. Arjavkina, A.V. Yazenok, D.A. Siniachkin, A.N. Zhekalov, Yu.B. Goverdovskiy, A.S. Kryuchkova

Cytogenetical alterations as additional morbidity risk marker in military personnel of chemical weapons stockpile disposal facilities

Abstract. Health risk assessment was estimated in military personnel of chemical weapons stockpile disposal facilities with the different level of chromosomal aberrations. Cytogenetical investigations were performed in personnel of the chemical weapons stockpile disposal facilities with complete medical examination. The control group consisted of 55 similar age military men without contacts to any toxic chemicals. During cytogenetical investigation we have revealed high level of chromosomal aberrations in military personnel ($5,10 \pm 0,29$ vs $1,67 \pm 0,21$ in the control group, $U=1471$, $p=0,0001$). Individual levels of chromosomal aberrations in this group varied from 0 to 15 to 100 cells. Persons with CAs ratio more than 5 to 100 have had a high risk to be hospitalized for ascertainment of association of their diseases with job conditions (RR 1,4; 95% confidence interval 1,09; 1,85). In this group polyneuropathy was diagnosed in 34,5% of persons vs. 12,5% in group with CAs ratio less than 5 to 100 cells ($p=0,02$) and neurocirculatory dystonia was diagnosed in 20,9% vs. 7,5% ($p=0,02$). Risk for appearance of these diseases was 2,76 (95% confidence interval 1,39; 5,44) and 2,69 (95% confidence interval 1,07; 6,74). It is especially important to polyneuropathy because this nosology is considered as pathognomonic to organophosphorous toxicants. Cytogenetical investigation can be used for occupationally caused diseases risk assessment in the chemical weapons stockpile disposal facilities personnel. Increased morbidity in the group with the high CAs ratio made possible to suggest that genotoxic impact plays a significant role in the mechanism of appearance of diseases etiologically related with the work on the chemical weapons stockpile disposal facilities.

Key words: chemical weapon, toxicants, genotoxicity, cytogenetical investigation, chromosomal aberrations, health risk, polyneuropathy, neurocirculatory dystonia.

Контактный телефон: 8-921-345-98-62; e-mail: tatiana.kharchenko@szgmu.ru