

УДК 613.955+502+575.113

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ ІЗ РАЙОНІВ ПОСИЛЕНОГО ЕКОГЕНЕТИЧНОГО КОНТРОЛЮ ІВАНО-ФРАНКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Козовий Р.В.

*Івано-Франківська державна медична академія, Центральна науково-дослідна лабораторія, кафедра медичної біології з курсом медичної генетики, м. Івано-Франківськ***Ключові слова:** функціональний стан геному, асоціації акроцентричних хромосом, мутагени довкілля.

Вступ. Проблема постійного мутагенного навантаження на людські популяції знаходиться в центрі уваги наукових досліджень медичних [1, 7]. Надзвичайну небезпеку для живих організмів, а особливо для її нащадків становлять мутагени із безпороговою дією, незначні дози яких можуть призводити до змін спадкового апарату. Тому необхідним елементом прогнозування негативних генетичних наслідків забруднення довкілля є контроль над станом останнього. Найбільш об'єктивну картину дає дослідження дітей. Вони не мають зв'язку з професійними та шкідливими чинниками і водночас найбільш чутливі до несприятливого впливу зовнішніх факторів. Окрім того, вивчення типу порушень спадкового апарату дітей дає змогу зрозуміти природу дії мутагенів і здійснювати пошуки засобів захисту від їхнього негативного впливу [2].

Використання цитогенетичних біотестів, чутливих та інформативних, дає змогу оцінити навколишнє середовище за мутагенним фоном. З цією метою вивчаються частота асоціацій акроцентричних хромосом (ААХ) та хромосомних аберацій (ХА) у лімфоцитах периферійної крові, мікроядерний тест в епітеліальних клітинах слизової оболонки ротової порожнини (СОПР) [3, 9]. Окрім того, епітеліоцити СОПР є зручним об'єктом для скринінгових досліджень функціонального стану генотипу (ФСГ), що базується на чотирьох показниках, і відображає цілісну картину активності експресії генів та загальний стан організму [6]. Частота ААХ та показник ХА є індикатором імуногенетичного статусу людини. Поєднавши дані напрямки дослідження, можна отримати об'єктивну характеристику стану спадкового апарату.

Мета дослідження - встановлення мутагенного навантаження на організм за сукупністю цитогенетичних та морфо-функціональних показників ФСГ дітей з різних районів Івано-Франківської області.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження слугували епітеліоцити СОПР та культивовані лімфоцити периферійної крові 98 дітей віком 12-14 років. Обстеження проводилося у районах з різним екологічним станом: хімічно забруднених містах Івано-Франківську та Коломиї, зоні посиленого радіологічного контролю – с. Стецева Снятинського району та умовно екологічно чистому с. Красник Верховинського району.

Забір матеріалу та виготовлення препаратів СОПР здійснено за методикою Фольгеном у модифікації, яка враховує можливість ідентифікації РНК (рац. пропозиція №30/2319, 1997). ФСГ оцінювали за інде-

ксами конденсації хроматину (ІХ), ядерцевим (ЯІ), гетеропікнотичної Х-хромосоми (СХ), морфологічно змінених ядер (МЗЯ) у 100 інтерфазних ядрах з кожного препарату.

Культикування лімфоцитів периферійної крові та приготування препаратів хромосом проводилося за методичними рекомендаціями, затвердженими МОЗ України [15]. Аналізували метафазні пластинки з добрим розкидом хромосом. Ідентифікацію хромосомних порушень, кількість ААХ та АХ здійснювали на оптико-електронному комплексі "Метаскан – 2". Для визначення рівня статистичної значущості (р) зміни від вихідного рівня та кореляцій між показниками використовували комп'ютерну програму "Excel", що входить до складу пакету Microsoft office 98.

Результати дослідження та їх обговорення. При скринінгових обстеженнях населення для вивчення ранніх форм захворювань, як зручний об'єкт досліджень, використовують клітини СОПР. Різні дослідники аналізували окремі характеристики епітеліоцитів. Одні автори визначали функціональний стан організму людини і її біологічний вік, дію шкідливих факторів середовища за відсотком електронегативних ядер епітелію і швидкістю пробігу ядер при мікроелектрофорезі [11]. Інші дослідники пропонували вважати появу мікроядер в клітинах букального епітелію індикатором дії ксенобіотиків, променевого ураження [12]. Третя група вчених оцінювали важкість легеневої патології за морфологічними критеріями [13]. Однак для об'єктивної оцінки стану організму необхідно враховувати і морфологічні, і цитогенетичні показники, які відображають функціональну активність генотипу. Тому дане дослідження включало дослідження всіх індексів ФСГ в поєднанні зі станом каріотипу.

Порівняльний аналіз ФСГ усіх досліджуваних дітей дозволив встановити статеві закономірності цитологічних показників. Першочергово це відносилось до кількості ядер з деконденсованим хроматином. У всіх хлопчиків цей показник був вищим, ніж у дівчаток. (табл. 1). Варто зазначити, що ІХ дівчаток із с. Стецева перевищував аналогічний по всіх інших районах. Це може бути пов'язано з активацією таких біосинтетичних процесів у клітині, як транскрипція, під впливом малих доз іонізуючої радіації. Даний процес розцінюється як своєрідний механізм адаптації, що є невід'ємною частиною саморегуляції при виборі клітин нового шляху функціонування [10]. Важливий показник ФСГ – ЯІ. Кількість клітин з ядерцями у дітей із зони посиленого радіологічного контролю достовірно

збільшена порівняно з такою у дітей з екологічно чистого с. Красник. Подекуди було відмічено два ядра в різних ділянках каріоплазми, що засвідчує активність метаболічних потоків. У дітей з міст Коломиї та Івано-Франківська ЯІ був більшим, ніж у дітей з Верховинського району.

Величина показника СХ, який вказує на узгодженість різних етапів реалізації спадкової інформації, також залежить від впливу зовнішніх факторів [4, 8]. Відомо, що в нормі існує різниця між показником СХ у хлопчиків та дівчаток, яка забезпечує статеве дозрівання дітей. Нами виявлено, що у дівчаток з контрольної зони СХ перевищував аналогічний у хлопчиків в 21 раз. В меншій мірі така різниця спостерігалася у дітей м. Коломиї та м. Івано-Франківська, відповідно у 4,2 і 3,7 разу. Варто зазначити, що у дівчаток с. Стецева СХ нижчий порівняно з таким у дітей інших досліджуваних зон. Це пояснюється порушенням ферментативних систем транскрипції та контролю експресії генів внаслідок пошкоджуючого впливу малих доз іонізуючої радіації.

Про вплив токсичних факторів навколишнього середовища свідчить і кількість морфологічно змінених ядер, які характеризують загальну цитотоксичність клітинного оточення [5]. Вираженість процесів ядерної деструкції відповідає інтенсивності впливу чинників, які пошкоджують клітину та геном [10]. Збільшення питомої ваги МЗЯ у дітей с. Стецева вказує на посилення у останніх процесів ядерної деструкції у зв'язку з необхідністю запуску процесів клітинної адаптації. Це корелює з даними багатьох дослідників, які стверджують, що підвищення рівня та зростання гетерогенності ядерної патології виникає під впливом таких генетично активних факторів, як опромінення та ультразвук [6]. У дітей м. Коломиї та м. Івано-Франківська даний показник суттєво не відрізнявся від аналогічного у контролі.

Наступним етапом дослідження була вивчення імунотетичного статусу дітей за допомогою цитогенетичного аналізу. Встановлено, що середньогрупова частота ХА у дітей м. Івано-Франківська складала $2,85 \pm 0,25$, м. Коломиї – $2,98 \pm 0,24$ та Снятинського району – $3,05 \pm 0,15$, що переважало даний показник у Верховинському районі в 2,5, 2,7 і 2,8 разу відповідно. Водночас відзначено індивідуальну мінливість частоти ХА серед обстежених дітей. У деяких з них сумарний рівень аберацій перевищував 3%. У дітей м. Коломиї виявлено максимальне значення 5%, у м. Івано-Франківську – 7% та у Снятинському районі – 8%. У спектрі ХА обстежених з м. Івано-Франківська та м. Коломиї переважали хроматидні аберації: одиночні фрагменти, хроматидні мости, які засвідчують перевагу мутагенного фону хімічної природи. Маркери радіаційного мутагенезу (дицентрики, парні фрагменти) частіше зустрічалися у дітей зі Снятинського району.

Частота клітин з ААХ у дітей з хімічно забруднених районів дорівнювала 91%, із зони посиленого радіологічного контролю – 93%, а у контролі – 85%. Середня кількість ААХ в одній клітині коливалася від $1,55 \pm 0,15$ до $1,45 \pm 0,21$ у дітей Верховинського району, від $1,75 \pm 0,03$ до $1,59 \pm 0,23$ – м. Івано-Франківська, від $1,78 \pm 0,05$ до $1,52 \pm 0,31$ – в м. Коломиї та від $1,81 \pm 0,31$ до $1,21 \pm 0,06$ – в Снятинському районі. Число асоційованих хромосом в одній клітині становило $3,2 \pm 0,27$ (м. Івано-Франківськ), $3,3 \pm 0,15$ (м. Коломиї), $3,8 \pm 0,18$ (Снятинський район) та $2,8 \pm 0,31$ (Верховинський район). Отримані дані корелюють з показниками частоти ХА ($r = 0,73 - 0,9$) та результатами попередніх досліджень [14], що підтвердило зниження імунотетичного статусу дітей в містах Івано-Франківськ, Коломиї та Снятинському районі, а також постійно зростаюче мутагенне навантаження на спадковий апарат людини.

Таблиця 1

Цитологічні показники (%) епітеліоцитів слизової оболонки ротової порожнини у дітей досліджуваних районів ($M \pm m$)

Показники	с. Стецева		с. Красник		м. Івано-Франківськ		м. Коломиї	
	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки	Чоловіки
IX	$0,89 \pm 0,04$	$0,93 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,04$	$0,91 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,04$	$0,94 \pm 0,07$	$0,81 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,5$
ЯІ	$6,32 \pm 0,51^*$	$7,53 \pm 0,38^*$	$1,45 \pm 0,26$	$1,67 \pm 0,68$	$3,68 \pm 0,51^*$	$3,96 \pm 0,62^*$	$4,02 \pm 0,75^*$	$4,61 \pm 0,48^*$
СХ.	$20,01 \pm 0,76$	$6,71 \pm 0,67^*$	$24,38 \pm 0,64$	$1,16 \pm 0,78$	$21,97 \pm 0,77$	$5,98 \pm 0,95^*$	$22,65 \pm 0,56$	$5,41 \pm 0,21$
МЗЯ	$8,01 \pm 0,58^*$	$8,85 \pm 0,36^*$	$3,21 \pm 0,45$	$2,98 \pm 0,62$	$2,98 \pm 0,21$	$3,08 \pm 0,09$	$4,52 \pm 0,74$	$4,76 \pm 0,23$

Висновки. 1. Визначення цитологічних показників ФСГ у соматичних клітинах дітей є доцільним скринінговим методом для встановлення стану загального мутагенного фону довкілля. 2. Поєднане вивчення частоти ХА і ААХ забезпечує об'єктивну оцінку імунотетичного статусу організму. 3. Доведено зниження генетичного здоров'я дітей з хімічного забруднених м. Івано-Франківська та м. Коломиї, і зони посиленого радіоекологічного контролю Снятинського району.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку полягають у динамічному спостереженні ФСГ

дітей впродовж тривалого періоду, що дозволить прогнозувати генетичну небезпеку забруднення для нащадків. Співставлення даних ФСГ, частоти ХА та ААХ, забезпечить відтворення цілісної картини пошкодження спадкового апарату, визначення групи дітей підвищеного генетичного ризику. Наступним етапом дослідження повинно бути проведення кореляційного аналізу між ФСГ, ААХ, індикаторами генетичного здоров'я та результатами тестування води, ґрунтів на наявність мутагенів для встановлення рівня еколого-генетичної небезпеки для людини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барияк І.Р., Дуган О.М. Еколого-генетичні дослідження в Україні // Цитологія і генетика. - 2002. - № 5. - С.3-5.
2. Горвая А. И., Климкина И. И. Использование цитогенетического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами// Цитология и генетика. - 2002. - №5. - С. 21-25.
3. Горова А. І., Клімкина І. І., Мажаров М. В., Скворцова Т. В., Хазан П. В. Моделі оцінкипоказників здоров'я та генетичної небезпеки для населення // Моніторинг та прогнозування генетичного ризику в Україні. - Київ, 2000. - Вип. 3. - С.312-330.
4. Бойчук Т. В., Ковальчук Л. Є. Характеристика функціонального стану геному хворих на неімунні нефропатії// Буковинський медичний вісник.-2002. -№2. -С. 12-18
5. Власова Л. Ф., Непомнящих Л. М. Ультраструктура эпителиоцитов из смывов слизистой оболочки полости рта// Бюл.эксперим.биол.-2000. -Т.129, №3. - С.352-355.
6. Ковальчук Л. Є., Кочерга З. Р., Ковальчук Н. В. Цито- і ультраструктурні характеристики спадкового апарату дитячого населення окремих регіонів Прикарпаття// Вісник морфології. - 1998. -№4. - С. 64-65.
7. Сердюк А.М., Тимченко О.І., Гойда Н.Г. і ін. Генофонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля - К.: ІГМЕ АМН України, 2003. - 191 с.
8. Сердюк А.М., Тимченко О.І. Тягар розладів репродуктивного здоров'я населення України. //Педіатрія, акушерство і гінекологія - 1997. - № 3. - С. 5-7.
9. Пілінська М.А., Дибський С.С., Скалецький Ю.М. Використання методу FISH для верифікації доз опромінення у ліквідаторів Чорнобильської аварії //Цитологія і генетика. - 2002. - № 33. - № 5. - С.6-16.
10. Кочерга З. Р. Оцінка функціонального стану спадкового апарату дитячого населення окремих регіонів Прикарпаття.// Галицький лікарський вісник.- 1997.-4/3. - С. 40-43.
11. Бородай Н. В., Ганина К. П., Центило Т. Д. Содержание ДНК в ядрах клеток букального эпителия у практически здоровых людей// Цитология и генетика. - 1991. - т.25, №25. - С.59-60.
12. Жулева Л. Ю., Дубинин Н. П. Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области // Генетика. -1994.- т.30, №7. -С. 999.
13. Рыжавский Б. Я., Холодок Г. Н. Изменения букального эпителия при некоторых заболеваниях у детей // Клиническая и лабораторная диагностика. - 1995. - №2. -С. 39-40.
14. Случик В. М. Комплексна оцінка мутагенного фону, зумовленого мало інтенсивними факторами хімічного виробництва (експериментально-популяційне дослідження). Автореф. дис. ... к.б.н. / 03.00.15 – генетика / Український науковий гігієнічний центр. - К., 1996. - 24 с.
15. Зернова-Любимова Т. Е., Горovenko Н. Г. Стандарти аналізу препаратів хромосом людини // Методичні рекомендації. - К., 2003. - 52 с.

SUMMARY

VALUATION OF CHILDREN'S GENETIC HEALTH FROM THE DISTRICTS OF INTENSIFIED ECOGENETIC CONTROL IN IVANO-FRANKIVSK REGION

Kosovyy P.V.

The lowering of children's general health from chemically polluted towns (Ivano-Frankivsk, Kolomya) and the area of intensified radio-ecologic control (The Snyatyn district) in comparison with conditionally ecologic pure area with the help of cytogenetic analysis of somatic cells: oral mucosa epitheliocytes (OM) and cultivated lymphocytes of peripheral blood has been proved. Four indexes of functional genome state (FGS) of 128 children at the age of 12-14 in connection with the Karyotype has been investigated.

The changes of chromatin condition of epitheliocytes in children from ecologically dangerous areas has been found out. The lowering of immunogenetic status of these children has been proved as higher quantity of acrocentric chromosomes association and chromosomal aberration pointed at it.

Chemical mutagenesis markers (chromatids aberrations) exceeded in metaphase platelets in children from Ivano-Frankivsk and Kolomya. Combined study of cytologic indexes (FGS) and frequency of (CA) and (AChA) reflect the real picture of hereditary apparatus damage and allow to determine the group of higher genetic risk children.