Экспериментальная оценка влияния комплекса биопртекторов на миелотоксичность и генотоксичность монацита

Ерёменко О.С., научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург
Береснева О.Ю., к.м.н., доцент кафедры гистологии "ГОУ ВПО УГМА Росздрава", г. Екатеринбург
Макеев О.Г., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярных медицинских технологий "ГОУ ВПО УГМА Росздрава", г. Екатеринбург

Experimental assessment of the influence of a complex of bio-protectors on myelotoxicity and genotoxicity of monazite

Yeremenko O.S., Beresneva O. Yu., Makeev O.H.

Резюме

В эксперименте на крысах выявлен ряд неблагоприятных эффектов действия пыли монацитового концентрата, свидетельствующих о её миело- и генотоксичности. Показано существенное ослабление этих эффектов на фоне предложенного и испытанного комплекса биопротекторов с различными механизмами защитного действия.

Ключевые слова: монацит, биопротекторы, костный мозг, ДНК

Summary

It was shown in experiments on rats that monazite particulate induced changes manifesting myelo-, and genotoxicity of this substance. Complex of bioprotectors with different mechanisms of action tested in this study attenuates these adverse effects of the monazite.

Key words: monazite, bio-protectors, bone marrow, DNA

Монацит представляет собой минерал класса фосфатов редкоземельных элементов цериевой группы и тория, содержащий также до 0,4% урана. Воздействие на организм монацита во многом определяется радиотоксичностью этих двух элементов обусловленной, в основном, α-излучением [1, 2]. На территории одного из районов Свердловской области на протяжении десятков лет находится база хранения монацитового концентрата (МК), неудовлетворительное техническое состояние которой обусловило риск для здоровья не только работающих на ней, но и населения окружающих деревень. Несмотря на то, что уровень радиации на территории Красноуфимского района находится в пределах нормы, медицинское обследование жителей в 2007 г. показало более высокую предрасположенность населения, испытывающего более высокую (хотя и укладывающуюся в нормы безопасности) радиационную нагрузку, к различным заболеваниям и в том числе к новообразованиям [3]. Для работающих непосредственно на базе хранения МК риск значительно выше, в связи с чем была поставлена задача найти способ повышения устойчивости организма к вредному действию монацита с помощью комплекса безвредных средств, благоприятно влияющих на токсикокинетику и токсикодинамику монацита. Предпосылкой к решению этой проблемы являлся многолетний опыт разработки и положительной апробации (как в эксперименте, так и на испытуемых) подобных биопрофилактических комплексов (БПК), освещённый в большом числе публикаций [4-6].

Использованная в эксперименте усреднённая проба МК (с содержанием тория 4,75%), была растёрта до дисперсного состава, характерного для минеральных аэрозолей дезинтеграции. Вводили МК интратрахеально нелинейным белым крысам-самкам весом 180-200 г в виде взвеси, содержащей 50 мг пыли в 1 мл стерильного физиологического раствора, под эфирным наркозом однократно, и они были умерщвлены быстрой декапитацией спустя 6 месяцев. Питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями "Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных" (Приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755). В эксперименте участвовали 4 группы животных. Первая получала взвесь МК; вторая – то же на фоне действия БПК; третья – БПК без МК; четвертая – только физиологический раствор

Ответственный за ведение переписки – Еременко Ольга Сергеевна, 620034, г. Екатеринбург, ул. Бебеля, д. 126, кв. 208, E-mail: mastofaga@mail.ru

(контрольная группа). В состав БПК, получаемого крысами в течение 5 рабочих дней каждой недели, входили: глютаминат натрия, поливитаминно-полиминеральный комплекс "СЕЛМЕВИТ"; препарат "Йодомарин"; метионин; препарат рыбьего жира "Эйкозовитол", богатый полиненасыщенными жирными кислотами (в основном, группы омега-3). Эффективность добавления этого препарата при действии комбинации мутагенных металлов показана ранее и в эксперименте [7, 8], и на добровольцах [8, 9]. Обоснование выбора данных биопротекторов приводилось ранее в более развернутой публикации [10].

Для оценки воздействия монацита на кроветворение проводилось изучение клеточного состава косного мозга. Генотоксические эффекты монацита определялись учетом микроядер (МЯ) в полихроматофильных эритроцитах костного мозга, а также оценкой повреждения и репарации ДНК в клетках крови методом ДНК-комет и анализом полиморфизма длин амплифицированных фрагментов; сущность и техника этих тестов описывались нами ранее [7-9].

Анализ миелограммы (результаты которого приведены в таблице 1) показал, что отношение лейкобластических элементов к эритробластическим под влиянием монацита статистически значимо снизилось, но на фоне БПК это снижение не значимо. Статистически значимым было также снижение под влиянием монацита процента сегментоядерных и палочкоядерных/юных клеток, а также показателя созревания нейтрофилов. На фоне действия БПК оба показателя нормализовались. Наблюдалось существенное снижение под влиянием монацита процента клеток гранулоцитарного ростка кроветворения, зафиксированных на различных стадиях митоза, причём и этот эффект значимо ослаблен фоне действия БПК. Межгрупповые различия носили тот же характер и в отношении моноцитов костного мозга, хотя не были значимы статистически, а также клеток лимфоцитарного ростка. Общее число последних было статистически значимо снижено при действии одного монацита, но при таком же действии на фоне БПК снижение по сравнению с контрольным показателем менее выражено и не значимо статистически, причём в этой группе рассматриваемое число статистически значимо выше такового при действии одного монацита. Тормозящее действие монацита видно на всех стадиях лимфоцитопоэза (лимфобласт – пролимфоцит – лимфоцит), причём на всех стадиях БПК дал более или менее выраженное ослабление этого действия.

Учёт МЯ в полихроматофильных эритроцитах костного мозга крыс показал, что МК проявляет слабую мутагенную активность (повышение числа МЯ с 1,18±0,20 в контроле до 2,30±0,37 под действием МК, при использовании средств биопрофилактики число МЯ уменьшается до 1,70±0,45). При этом в МЯ тесте на клетках костного мозга мышей, при однократном внутрибрюшинном введении различных доз (6-9 мг/кг), МК мутагенности не проявил.

Пылевые частицы, задержанные в лёгочной ткани, могут попасть через лимфу в системный кровоток и этим путём вторично оказаться задержанными в любом органе, имеющем клетки ретикуло-эндотелиальной системы. Можно думать, что обнаруженные нами изменения процессов кроветворения, связаны с воздействием на них ионизирующего излучения от частиц монацита, задержанных в костномозговой ткани, а возможно, и с токсическим влиянием редкоземельных элементов, медленно переходящими в тканевую среду из этих частиц. От этих воздействий можно ожидать не только торможения митозов кроветворных клеток, но и повреждения ядерной ДНК, которое должно быть манифестировано выходом в кровь лейкоцитов с признаками такого повреждения. Действительно, оценка генотоксичности использованными нами методами тестирования повреждения и репарации ДНК свидетельствует о том, что МК обладает генотоксическим эффектом, проявляющимся увеличением фрагментации ДНК не только в моноцитах крови (то есть в клетках системы мононуклерных фагоцитов), но и в иммуно-компетентных клетках (лимфоцитах). Этот генотоксический эфеект тормозится биопротекторами (таблица 2). Сам по себе БПК не обладает собственным генотоксическим действием и, напротив, дал некоторое ослабление фонового уровня фрагментации ДНК. Так, наблюда-

Таблица 1. Некоторые показатели клеточного состава костного мозга крыс через 6 мес. после интратрахеального введения монацита (%, X±Sx)

Показатель	Группа		
	контроль	монацит	монацит+БПК
Лимфобласты	1,20±0,19	0,65±0,08 *	0,78±0,17
Пролимфоциты	2,22±0,31	0,94±0,17 *	1,60±0,13 *
Лимфоциты	4,31±0,45	2,36±0,27 *	3,41±0,47
Плазмоциты	1,29±0,24	1,65±0,25	1,87±0,33
Общее число клеток лимфоцитарного ростка	9,03±0,94	5,60±0,59 *	7,66±0,65 *
Сегментоядерные нейтрофилы	24,46±0,69	19,86±1,85 *	23,48±1,31
Палочкоядерные (юные) нейтрофилы	6,78±0,48	5,29±0,53 *	5,11±0,60 *
Показатель созревания нейтрофилов = палочкоядерные + сегментоядерные/ все нейтрофильные клетки	0,84±0,02	0,78±0,02 *	0,81±0,02
Митозы миелоидных клеток	0,72±0,07	0,41±0,08 *	0,78±0,11 *
Отношение лейкобластические эритробластические элементы	1,96±0,14	1,47±0,12 *	1,79±0,17

*Примечание: различия статистически значимы с: * – с контрольной группой ($p \leq 0,05$);*
• – с группой "Монацит" ($p \leq 0,05$) по t-критерию Стьюдента

Таблица 2. Распределение повреждений ДНК по классам комет (в %, X±Sx) в лимфоцитах и моноцитах крови крыс через 6 мес. после интратрахеального введения взвеси монацитового концентрата

Класс	Группа			
	контроль	монацит	монацит+БПК	БПК
В лимфоцитах				
C1	50,20±3,10	9,09±1,89 *	14,14±2,69 *•	61,69±4,11 *•
C2	29,50±4,55	9,27±1,57 *	44,14±4,23 *•	30,85±4,23 *
C3	19,70±4,43	28,27±2,54 *	27,43±4,14 *	7,00±3,56 *•
C4	0,20±0,84	35,73±3,80 *	13,86±2,69 *•	0,31±1,26 *
C5	0,40±1,03	17,64±2,87 *	0,42±1,07 *	0,15±0,75 *
В моноцитах				
C1	50,30±5,34	0,36±1,35 *	14,14±2,69 *•	54,38±6,35 *
C2	30,40±4,13	8,64±4,13 *	27,86±2,69 *	30,54±4,37 *
C3	9,50±4,83	27,45±4,68 *	29,14±4,07 *	14,69±2,87 *
C4	9,50±6,06	35,09±4,14 *	28,57±2,79 *•	0,46±1,93 *•
C5	0,30±1,35	28,45±4,85 *	0,29±0,98 *	0 *

*Примечания. 1 – C1 – практически неповрежденные клетки; C2 – клетки, имеющие низкий уровень повреждения ДНК, C3 – средний уровень повреждения ДНК, C4 – высокий уровень повреждения ДНК и C5 – полностью поврежденные клетки; различия статистически значимы с: * – с контрольной группой (p<0,05); • – с группой "Монацит" (p<0,05) по t-критерию Стьюдента*

лось значимое понижение коэффициента фрагментации ДНК лимфоцитов крови, в группе принимавшей БПК (0,059±0,003) по сравнению с контролем (0,083±0,006). При этом под действием МК коэффициент фрагментации повышен (0,096±0,031). По сравнению с показателем этой группы снижение коэффициента фрагментации при действии монацита на фоне БПК, статистически значимо (0,035±0,001).

Следует отметить, что в том же эксперименте нами было найдено благоприятное влияние испытывавшегося БПК на цитотоксический эффект и фиброгенность пыли МК в лёгких и на ряд показателей её резорбтивной токсичности [10, 11].

Таким образом, частицы монацитового концентрата, вводимые крысам интратрахеально в виде суспензии, вызывают изменения, свидетельствующие о миелотоксичности и генотоксичности этого материала, по всей вероятности, хотя бы отчасти связанных с присутствием в его составе не только редкоземельных, но и естественных радиоактивных элементов ряда тория и, в меньшем количестве, урана. Испытанные в эксперименте биопротекторы ослабляют вредные указанные вредные эффекты монацита. ■

Литература:

1. Вредные вещества в окружающей среде. Элементы I-IV групп периодической системы и их неорганические соединени . Под ред. В.А. Филова. СПб., 2005: 269-83.
2. Вредные химические вещества (справочник). Радиоактивные вещества. Под ред. Л.А. Ильин, В.А. Филов. Ленинград, 1990: 172-233.
3. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Кочнева Н.И. и др. Мониторинг радиационного фактора и здоровь населени в зоне размещени хранилища монацитового концентрата. Уральский мед. журн. 2008; 11: 77-9.
4. Кацнельсон Б.А., Дегт рева Т.Д., Привалова Л.И. и др. Биологическа профилактика как комплексное воздействие, повышающее резистентность организма к действию вредных факторов производственной среды Вестн. Уральской мед. науки. 2005; 9: 70-6.
5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V. et al. "Biological prophylaxis" as one of the ways to proceed from analytical environmental epidemiology to public health protection. Eur Epi Marker 2008; 12(3): 1-8.
6. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sutunkova M.P. et al. Attenuation of some adverse health effects of chrysotile asbestos with a bioprotective complex in animal experiments. Cent Eur J Occup Environ Med. 2007; 13(3-4): 265-76.
7. Кацнельсон Б.А., Макеев О.Г., Кочнева Н.И. и др. Контролируемое испытание на женщинах-добровольцах комплекса средств биологической защиты организма от экологически обусловленного токсического и канцерогенного риска. Токсикол. вестн. 2008; 3: 12-19.
8. Katsnelson B.A., Makeev O.H., Kochneva N.I. Testing a set of bioprotectors against the genotoxic effect of a combination of ecotoxicants. Cent Eur J Occup Environ Med. 2007; 13(3-4): 251-64.
9. Кацнельсон Б.А., Макеев О.Г., Дегт рева Т.Д. и др. Экспериментальное испытание комплекса средств биологической защиты организма от канцерогенного действи комбинации экотоксикантов. Токсикол. вестн. 2007; 3: 15-20.
10. Еременко О.С., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И. и др. Токсические эффекты монацита и их торможение комплексом биопротекторов. Токсикол. вестн. 2009; 4: 5-11.
11. Katsnelson B.A., Yeremenko O.S., Privalova L.I. et al. Toxicity of monazite particulate and its attenuation with a complex of bioprotectors. Med Lav. 2009; 100(6): 455-470.