

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Абдрахманова Е.Р.^{1,2}, Власова Н.В.¹, Масыгутова Л.М.^{1,2}, Гизатуллина Л.Г.¹, Гимранова Г.Г.^{1,2}, Чудновец Г.М.¹, Садретдинова Г.Р.¹

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВРЕДНЫХ ФАКТОРОВ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

¹ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Россия, Уфа;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450008, Уфа, Россия

На современном этапе развития общества, актуальными остаются вопросы сохранения и укрепления важнейшей производительной силы, определяющей экономическое развитие и национальную безопасность страны. Одной из базовых отраслей промышленности России, формирующей до 20% ВВП, является металлургия. Данное исследование посвящено оценке состояния слизистой оболочки полости рта у работников этой отрасли.

Цель работы – оценить образование микроядер в буккальных клетках в качестве раннего биомаркера нарушений здоровья в результате профессионального воздействия факторов производства металлургического комбината. Проведены гигиенические и клинико-лабораторные исследования у работников металлургического комбината республики Башкортостан. Выполнены цитологические исследования буккального эпителия. Статистическая обработка результатов проведена при помощи прикладных программ IBM, SPSS, Statistics, Microsoft Excel. Общая оценка условий труда, согласно критериям Р.2.2.2006-05 для работников металлургического комбината, установлена 3.2-3.3. Анализ буккального эпителия выявил встречаемость клеток с цитогенетическими нарушениями у рабочих основной группы. Клетки с ядрами атипичной формы идентифицированы у работников при длительности контакта с неблагоприятными факторами производства более десяти лет. Выявлены признаки деструкции ядра, характеризующие повышение апоптической активности у рабочих с продолжительным временем контакта. Исследования выявили, что при стаже работы более 10 лет происходит преобладание процессов пролиферации над процессами дифференцировки. Полученные результаты могут быть использованы в качестве диагностических методов, расширяющих перспективы выявления предпатологических и патологических состояний.

Ключевые слова: цитотоксические эффекты; металлургическое производство; буккальный эпителий.

Для цитирования: Абдрахманова Е.Р., Власова Н.В., Масыгутова Л.М., Гизатуллина Л.Г., Гимранова Г.Г., Чудновец Г.М., Садретдинова Г.Р. Цитогенетические особенности буккального эпителия при воздействии вредных факторов металлургического производства. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(2): 99-103. DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-99-103>

Abdrakhmanova E.R.^{1,2}, Vlasova N.V.¹, Masyagutova L.M.^{1,2}, Gizatullina L.G.¹, Gimranova G.G.¹, Chudnovets G.M.^{1,2}, Sadrtidinova G.R.¹

CYTOGENETIC FEATURES OF BUCCAL EPITHELIUM UNDER EXPOSURE TO HARMFUL FACTORS OF METALLURGICAL PRODUCTION

¹Federal Budgetary Institution of Science "Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology", 450106, Ufa, Russia;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Bashkir State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 450008, Ufa, Russia

At the present stage of development of society, the issues of preserving and strengthening the most important productive force that determine the economic development and national security of the country remain relevant. Metallurgy is one of the basic industries in Russia, which forms up to 20% of GDP. This study assesses the condition of the oral mucosa in workers in the industry. To evaluate the formation of micronuclei in buccal cells as an early biomarker of health disorders as a result of occupational exposure to production factors of a metallurgical plant. Hygienic and clinical laboratory tests were carried out for workers of the metallurgical plant of the Republic of Bashkortostan. Cytological studies of the buccal epithelium were performed. Statistical processing of the results was carried out using the applied programs IBM, SPSS, Statistics, Microsoft Excel. The general assessment of working conditions in accordance with the criteria of R.2.2.2006-05 for workers of the metallurgical plant was established as 3.2-3.3. Analysis of the buccal epithelium revealed the occurrence of cells with cytogenetic disorders in the workers of the main group. Cells with atypical nuclei were identified in workers with a duration of contact with unfavorable factors of production for more than ten years. Signs of nuclear destruction were revealed, characterizing an increase in apoptotic activity in workers with prolonged contact times. Studies have shown that with more than 10 years of work experience, proliferation processes prevail over differentiation processes.

The results obtained can be used as diagnostic methods that expand the prospects for identifying pre-pathological and pathological conditions.

Key words: cytotoxic effects; metallurgical production; buccal epithelium.

For citation: Abdrakhmanova E.R., Vlasova N.V., Masyagutova L.M., Gizatullina L.G., Gimranova G.G., Chudnovets G.M., Sadrtidinova G.R. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (2): 99-103 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-2-99-103>

For correspondence *Abdrakhmanova Elena Rafilovna*, Candidate of Medical Sciences, Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology; e-mail: elenara@inbox.ru

Information about authors:

Abdrakhmanova E.R. <https://orcid.org/0000-0003-2763-1358>;
Vlasova N.V. <https://orcid.org/0000-0003-3926-0937>;
Masyagutova L.M. <https://orcid.org/0000-0003-0195-8862>;
Gizatullina L.G. <https://orcid.org/0000-0001-6593-2704>;
Gimranova G.G. <https://orcid.org/0000-0002-8476-1223>;
Chudnovets G.M. <https://orcid.org/0000-0002-5807-2037>;
Sadrtidinova G.R. <https://orcid.org/0000-0002-1530-5312>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 28.10.2020
Accepted 02.11.2020

Введение. На современном этапе развития общества, актуальными остаются вопросы сохранения и укрепления важнейшей производительной силы, определяющей экономическое развитие и национальную безопасность страны, а именно ее трудовых ресурсов. Одной из базовых отраслей промышленности России, формирующей до 20% ВВП, является металлургия. Россия на мировом рынке входит в число ведущих экспортеров цветных и, особенно черных металлов [1].

Металлургическое производство относится к предприятиям полного цикла, что предполагает использование огромного числа технологических процессов, различных температурных режимов, связующих и каталитических материалов. Несмотря на проводимую модернизацию отрасли, существенному снижению доли операций, выполняемых вручную и преобладанию непрерывных технологических процессов, условия труда ряда профессий не исключают воздействия комплекса вредных производственных факторов: нагревающий микроклимат, сложные аэрозоли металлов, а также огнеопасные и взрывоопасные, ядовитые вещества, шум, вибрация, воздействие электромагнитного излучения [2]. Несомненно, указанные факторы, воздействующие на работников в процессе трудовой деятельности, способны явиться причиной развития нарушений здоровья. Исследования отечественных авторов подтвердили значительную роль вредных факторов металлургического производства в формировании патологических состояний различных органов и систем. [3, 4, 5].

В литературе последних лет достаточно работ, посвященных анализу различных маркеров ранней, донозологической диагностике при воздействии факторов производства [6,7]. Одним из тестов, позволяющих оценить заболевания и процессы, связанные с индукцией повреждения ДНК, в качестве эффективного биомаркера рассматривается микроядерный тест буккального эпителия [8].

Актуальность проведенного исследования определяется выявлением предпатологических и патологических состояний, позволяющих диагностировать степень тяжести, прогнозировать течение профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний. Кроме того, минимальная инвазивность сбора клеток, низкая стоимость, простота хранения и подготовка препаратов делают микроядерный тест буккального эпителия идеальным выбором для молекулярно-эпидемиологических исследований при воздействии различных факторов производства [9 – 11].

Цель работы – оценить образование микроядер в буккальных клетках в качестве раннего биомаркера на-

рушений здоровья в результате профессионального воздействия факторов металлургического производства.

Материал и методы. Для достижения поставленной цели и решения задач настоящей работы на одном из предприятий металлургического комбината проведены цитологические исследования буккального эпителия, взятых у работников, работающих в основных цехах, сгруппированных по технологическому принципу. В основную группу вошли работники, профессиональная деятельность которых не исключает воздействие на организм факторов производственной среды ($n=114$), во вторую группу вошли работники вспомогательных подразделений, не имеющие контакта с промышленными веществами ($n=50$). Основная группа была подразделена по признаку времени контакта с промышленными аэрозолями на 2 подгруппы: с малым временем контакта (до 10 лет) и с продолжительным временем контакта (более 10 лет). Средний возраст обследованных составил $48,35 \pm 8,74$ лет, общий стаж – $18,54 \pm 9,72$ лет. Все группы сопоставимы по полу и возрасту и числу курящих сотрудников.

Отбор проб проведен в условиях углубленного обследования работников, госпитализированных в стационар клиники ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» для уточнения диагноза и решения экспертных вопросов профпригодности. Лабораторные исследования осуществлены с информированного согласия обследуемых, в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации 2000 года.

Материалом исследования служили образцы многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой оболочки полости рта (буккального эпителия) работников. Перед взятием образцов обследуемые тщательно ополаскивали рот стерильным физиологическим раствором. Эпителиальные клетки соскабливали со слизистой щеки стерильным шпателем и наносили на предметное стекло. Образцы высушивали, окрашивали по методу Паппенгейма-Крюкова. Препараты анализировали под микроскопом Микмед-5 (Россия) при увеличении 10×40 ; 10×100 . Микроядра идентифицировали согласно стандарту, описанному в работе Tolbert P.E. [12]. Так же, учитывались двуядерные клетки, кариопикноз, кариорексис, кариоллизис.

Анализ частоты встречаемости клеточных аномалий проводили на отдельно лежащих неповрежденных и направленных клетках с подсчетом не менее 1000 клеток в каждом препарате, определяли отношение количества клеток с микроядрами и другими признаками ядерной дегенерации к общему числу ядродержащих клеток (%). Из анализа исключали клетки, на поверхности которых имеются многочисленные микроорганизмы.

Для оценки гигиенических параметров условий труда проведен анализ санитарно-гигиенических характеристик, предоставленных предприятием при установлении связи заболевания с профессией. Всего проанализировано 18 характеристик, из них по профессиям: калильщик – 4 человека (22%); прессовщик лома и отходов металла – 3 человека (16,6%); машинист по навивке канатов – 3 человека (16,6%); автоматчик холодно-высадочных автоматов – 3 человека (16,6%); огнеупорщик, занятый на футеровке термических печей – 5 человек (27,7%).

Статистическая обработка результатов проведена при помощи прикладных программ IBM SPSS Statistics, Microsoft Excel. Проверку на нормальность распределения количественных показателей в группах проводили по критериям Колмогорова-Смирнова. Для описания количественных данных использовались следующие расчетные показатели: определение средних величин (M), стандартного отклонения (δ), стандартной ошибки средней (m). Для сравнения двух групп по выраженности количественных признаков применяли критерии Стьюдента. В процессе анализа вывод о статистической значимости принимался при $p < 0,05$.

Результаты. Производства металлургического предприятия имеют в своем составе доменные, мартеновские и прокатные цеха. В процессе работы в этих цехах происходят существенные изменения внешней среды: резкое повышение температуры воздуха в теплый

период года и снижение ее в холодный, мощное излучение от нагретого и расплавленного металла, выделение на некоторых участках значительных количеств окиси углерода, запыленность воздуха на подготовительных процессах и пр.

Общая гигиеническая оценка условий труда, работников металлургического комбината согласно критериям Р.2.2.2006-05 соответствует вредному 3 классу 2-3 степени (3.2-3.3) [13] (см. таблицу).

Встречаемость клеток с цитогенетическими нарушениями у рабочих, контактирующих с вредным производственным фактором, выше, чем в контрольной группе, не имеющих контакта с вредным производственным фактором (рис. 1).

Микроядра являются обособленной частью генетического материала за пределами основного ядра, которая представлена либо фрагментом хромосомы, образовавшимся в результате повреждения ДНК, либо одной или несколькими целыми хромосомами, отставшими в анафазе и не вошедшими в основное ядро. Повышение частоты клеток с микроядрами в ротовой полости исследователи относят к наиболее ранним проявлениям нарушения цитогенетического гомеостаза и снижения адаптационного резерва организма [14]. Клетки с ядрами атипичной формы идентифицированы у работников при длительности контакта с неблагоприятными факторами производства более десяти лет и могут быть обусловлены неправильным расположением хроматина в ядре, а

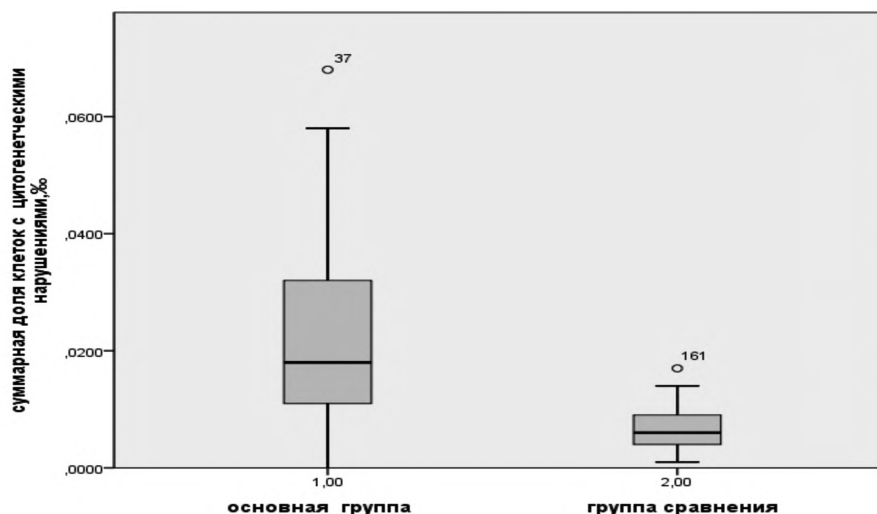


Рис. 1. Встречаемость клеток с цитогенетическими нарушениями.

Классификация условий труда работников металлургического комбината по степени вредности и опасности

Профессия	Вредные факторы, класс условий труда					Общая оценка условий труда
	Шум	Пыль растительного и животного происхождения	Химические вещества (най-ти в СГХ)	Тяжесть труда	Микроклимат производственных помещений	
Калильщик	3.1	3.1	3.1	3.2	3.1	3.3
Прессовщик лома и отходов металла	3.1	3.2	3.2	3.2	3.1	3.3
Машинист по навивке канатов	3.1	3.1	3.1	3.1-3.2	3.1	3.2
Автоматчик холодно-высадочных автоматов	3.1	3.2	3.2	3.2	3.2	3.3
Огнеупорщик, занятый на футеровке термических печей	3.1	3.2	3.1	3.1-3.2	3.1	3.2 -3.3

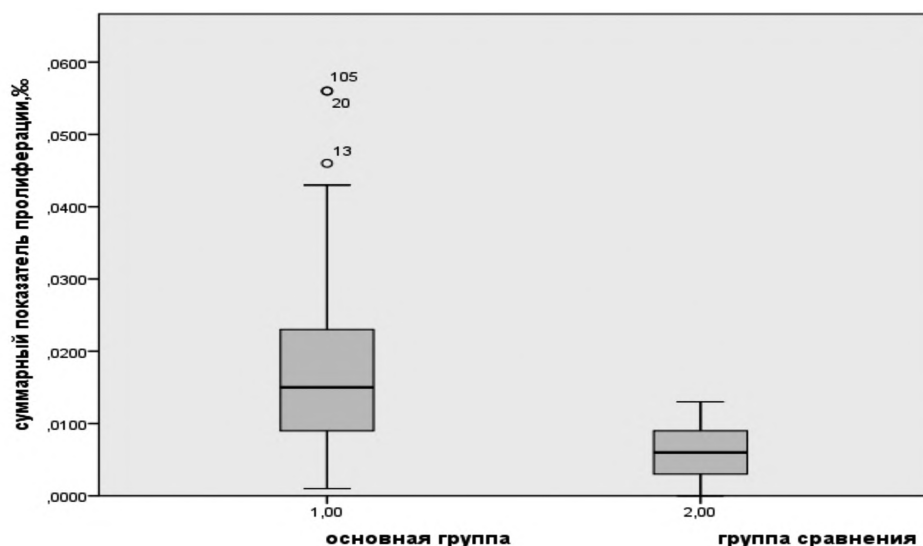


Рис. 2. Суммарный показатель пролиферации у работников металлургического производства.

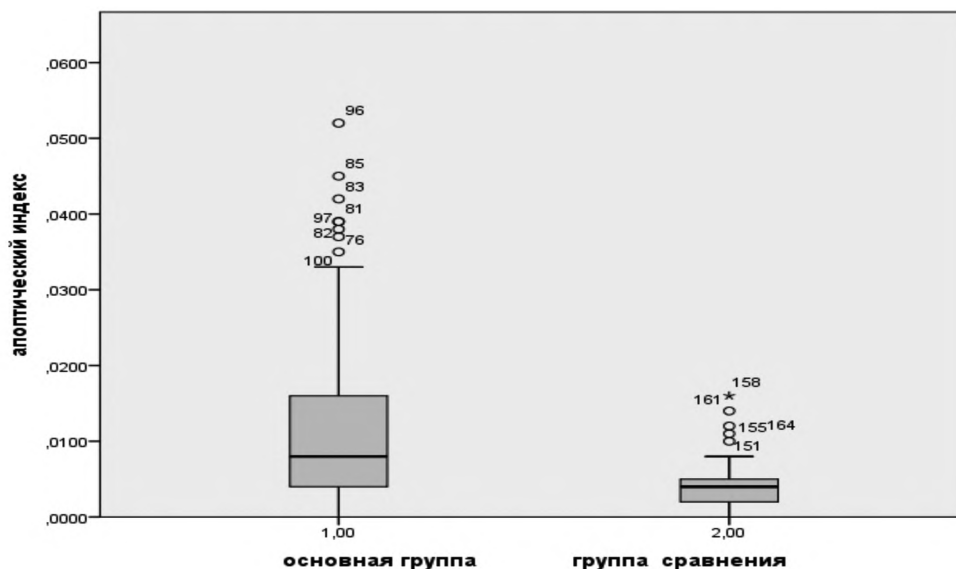


Рис. 3. Апоптическая активность клеток буккального эпителия у работников металлургического производства.

также смещением положения интерфазных хромосом в результате хромосомных aberrаций в митозе или нарушения веретена деления и анеуплоидии [15].

Схожая картина наблюдается и для показателей нарушения пролиферации: частоты встречаемости двуядерных клеток и клеток с круговой насечкой (рис. 2).

Обсуждение. Сравнительный анализ показателей пролиферации клеток буккальных эпителиоцитов выявил, что частота многоядерных клеток у рабочих со стажем до 10 лет в несколько раз меньше относительно данного показателя у рабочих со стажем более 10 лет. Также обращает на себя внимание признаки деструкции ядра, характеризующие повышение апоптической активности у рабочих с продолжительным временем контакта.

Высокий пролиферативный потенциал и апоптическая активность клеток являются предпосылками наличия скрытых механизмов нарушения регенерации, компенсаторного характера (рис. 3). Нарушение баланса

между клеточной пролиферацией и апоптозом влияет на эффективность регенераторных процессов при повреждении и приспособлении к патологическим условиям организма.

Анализ кариологических показателей позволил подтвердить цитотоксическое действие промышленных аэрозолей. Исследования выявили, что при стаже работы более 10 лет преобладание процессов пролиферации над процессами дифференцировки. При профессиональном стаже свыше 20 лет в организме, работающих имеют место адаптивные процессы.

Таким образом, показана связь между частотой встречаемости цитогенетических показателей и показателей деструкции ядра с длительностью контакта с вредным производственным фактором. Полученные результаты могут быть использованы в качестве диагностических методов, расширяющих перспективы выявления предпатологических и патологических состояний; для раз-

работки алгоритма скрининговых обследований работников, а также в качестве ранних индикаторов нарушений здоровья в условиях воздействия вредных факторов производственной среды.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 8-12, 15 см. REFERENCES)

1. Аналитический бюллетень /Металлургия: Тенденции и прогнозы. Доступно на сайте http://vid1.rian.ru/ig/ratings/metallurgy_demo.pdf.
2. Симонова Н.И., Кондрова Н.С. Качество и эффективность медицинской помощи, оказываемой работникам, занятым в условиях труда, не отвечающих санитарно-гигиеническим требованиям. *Медицина труда и промышленная экология*. 2010; 6: 1-7.
3. Электронный ресурс. Доступно на сайте <http://www.mechel.ru/sector/steel/bmk/>
4. Зайцева Н.В., Шур П.З., Клименко А.Р., Устинова О.Ю., Лебедева-Несевря Н.А., Костарев В.Г. Гигиеническая оценка факторов риска на производствах порошковой металлургии. *Медицина труда и промышленная экология*. 2011; 11: 16-9.
5. Базарова Е.Л., Федорук А.А., Рослая Н.А., Ошеров И.С., Бабенко А.Г. Опыт оценки профессионального риска, связанного с воздействием промышленных аэрозолей, в условиях модернизации металлургического предприятия. *Здоровье населения и среда обитания*. 2019; 310 (1):38-45.
6. Садрtdинова Г.Р., Масыгутова Л.М., Власова Н.В., Чудновец Г.М., Хайруллин Р.У. Гематологические исследования при диагностике ранних нарушений здоровья у работников при наличии хрома в воздухе рабочей зоны. *Санитарный врач*. 2019; 11: 40-4.
7. Масыгутова Л.М., Бакиров А.Б., Симонова Н.И., Гизатуллина Л.Г. Лабораторное обоснование этапности и объема профилактических мероприятий при работе в условиях микробного загрязнения воздуха рабочей зоны. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (9): 584-7.
13. Руководство Р 2.2.2006-05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда» М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2005.
14. Дерюгина А.В., Ивашенко М.Н., Игнатьев П.С., Самodelкин А.Г., Белов А.А., Гушин В.А. Оценка генотоксических эффектов буккального эпителия при нарушении адаптационного статуса организма. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(5): 290-2. doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292.

REFERENCES

1. Analytical Bulletin / Metallurgy: Trends and Forecasts. Available at http://vid1.rian.ru/ig/ratings/metallurgy_demo.pdf. (in Russian)
2. Simonova N.I., Kondrova N.S. The quality and efficiency of medical care provided to workers employed in working conditions that do not meet sanitary and hygienic requirements. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2010; 6: 1-7. (in Russian)

3. Electronic resource. Available at <http://www.mechel.ru/sector/steel/bmk/> (in Russian)
4. Zaitseva N.V., Shur P.Z., Klimenko A.R., Ustinova O.Yu., Lebedeva-Nesevrya N.A., Kostarev V.G. Hygienic assessment of risk factors in the production of powder metallurgy. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2011; 11: 16-9. (in Russian)
5. Bazarova E.L., Fedoruk A.A., Roslaya N.A., Osherov I.S., Babenko A.G. Experience in assessing professional risk associated with exposure to industrial aerosols in the context of modernization of a metallurgical enterprise. *Zdorove naseleniya i sreda obitaniya*. 2019;1 (310): 38-45. (in Russian)
6. Sadrtdinova G.R., Masyagutova L.M., Vlasova N.V., Chudnovets G.M., Khairullin R.U. Hematological examinations in the diagnosis of early health disorders in workers in the presence of chromium in the air of the working area. *Sanitarnyi vrach*. 2019; 11: 40-4. (in Russian)
7. Masyagutova L.M., Bakirov A.B., Simonova N.I., Gizatullina L.G. Laboratory substantiation of the stages and scope of preventive measures when working in conditions of microbial air pollution in the working area. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(9): 584-7. (in Russian)
8. Hopf N.B., Bolognesi C, Danuser B, Wild P. Biological monitoring of workers exposed to carcinogens using the buccal micronucleus approach: A systematic review and meta-analysis. *Mutat. Res*. 2019 Jul-Sep; 781:11-29. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.02.006.
9. Fenech M., Holland N., Zeiger E., Chang W.P., Burgaz S. et al. The HUMN and HUMNXL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells – past, present and future. *Mutagenesis*. 2011 Jan; 26(1):239-45. doi: 10.1093/mutage/geq051.
10. Dhillon V.S., Aslam M., Husain S.A. The contribution of genetic and epigenetic changes in granulosa cell tumors of ovarian origin. *Clin. Cancer Res*. 2004 Aug 15; 10(16): 5537-45.
11. Krishna L., Sampson U., Annamala P.T., Unni K.M., Binukumar B., George A., Sreedharan R. Genomic Instability in Exfoliated Buccal Cells among Cement Warehouse Workers. *Int. J. Occup. Environ. Med*. 2020 Jan; 11(1): 33-40. doi: 10.15171/ijoom.2020.1744.
12. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res*. 1992 Feb; 271(1): 69-77.
13. Manual P2.2.2006-05 “Guidelines for the hygienic assessment of factors working environment and labor process. Criteria and classification of working conditions” Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 2005. (in Russian)
14. Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatiev P.S., Samodelkin A.G., Belov A.A., Gushchin V.A. The evaluation of genotoxic effects in buccal epithelium under disorders of adaption status of organism. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(5): 290-2. doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-5-290-292. (in Russian)
15. Aguiar Torres L., Dos Santos Rodrigues A., Linhares D., Camarinho R., Nunes Páscoa Soares Rego Z.M., Ventura Garcia P. Buccal epithelial cell micronuclei: Sensitive, non-invasive biomarkers of occupational exposure to low doses of ionizing radiation. *Mutat. Res. Genet.Toxicol. Environ Mutagen*. 2019. Feb; 838:54-8. doi: 10.1016/j.mrgentox.

Поступила 28.10.20

Принята к печати 02.11.20