

Copyright © 2014 by Academic Publishing House *Researcher*



Published in the Russian Federation
European Researcher
Has been issued since 2010.
ISSN 2219-8229
E-ISSN 2224-0136
Vol. 76, No. 6-1, pp. 1046-1050, 2014

DOI: 10.13187/issn.2219-8229
www.erjournal.ru



Biological Sciences

Биологические науки

UDC 577.4:614.72

An Investigation into the Mutagenic Effect of Urban Dust under Its Chronic Action on Laboratory Animals

¹ Manara A. Mukasheva

² Kirill O. Osipov

³ Sabina D. Makisheva

¹ Karaganda State University named E.A.Buketov, Kazakhstan 100028, Karaganda region, Karaganda, st.Universitetskaya 28 Dr (Biology), Professor
E-mail: manara07@mail.ru

² Karaganda State University named E.A.Buketov, Kazakhstan Engineer
E-mail: kir_sun1@mail.ru

³ Karaganda State University named E.A.Buketov, Kazakhstan
E-mail: sabinka77710@mail.ru

Abstract. This article examines the action of soil dust in the city of Balkhash in an experiment on laboratory animals. In the city of Balkhash, 35 % of its territory is characterized by a dangerous, to various extents, level of soil pollution. The rest of the city's territory has demonstrated increased (supra-background) concentrations of toxic elements. The findings obtained in the course of the study attest to the adverse effect of the chemical composition of soil dust in ecogenetic disturbances of the chromosome apparatus of the marrow cells of mice. The general experiment involved 210 animals.

Keywords: Central Kazakhstan; Balkhash Mining and Metallurgical Combine; dust; maximum allowable concentrations (MAC); heavy metals; chromosomal aberrations.

Введение. По данным ряда специалистов-экологов, в Центральном Казахстане, имеются факторы, оказывающие негативное воздействие на экологическую систему в целом. За последние десятилетия увеличилось накопление тяжелыми металлами почвы и водных ресурсов [1, 2]. Для оценки эколого-генетической опасности химических соединений особую значимость и актуальность имеет исследование влияния загрязняющего агента на наследственность, а именно тестирование мутагенного действия [3, 4]. Экологическая ситуация в городе Балхаш, где градообразующим предприятием является Балхашский горно-металлургический комбинат, определила цель и задачи настоящего исследования – изучить мутагенное действие городской пыли в опытах на лабораторных животных.

Материалы и методы. Объектом исследования были половозрелые крысы линии «Вистар» массой 200–250 гр. В общем эксперименте было изучено 210 особей (родительские особи для эксперимента и дополнительно для разведения – 10 самок и 2 самца, 1-е и 2-е поколения, особи группы восстановления и контрольная группа), в каждой группе выборка состояла из 5 животных.

Из каждой группы было оставлено по 5 животных для восстановительного периода, а в 1-м и 2-м поколениях были животные, которые подвергались воздействию городской пыли только в эмбриональном периоде. Группы экспериментальных животных формировались следующим образом:

P- группа родительских форм: $n=60$; контроль $n = 18$;

F₁- особи 1-го поколения: $n = 50$; контроль F₁: $n = 10$;

F₂- особи 2-го поколения: $n = 50$; контроль F₂: $n = 10$.

Эксперимент проходил по следующей схеме:

1 серия – ингаляционная затравка экспериментальных животных городской пылью в дозе 0,05 мг/м³, рацион питания – стандартный;

2 серия – контрольная, животные содержались в стандартных условиях вивария, внутрибрюшинно вводился физиологический раствор.

Животные подвергались динамическому ингаляционному запылению в затравочных камерах, концентрация пыли в затравочной камере – 0,05 мг/м³, скорость потока воздуха – 10 см³/мин, длительность запыления составила 4 часа в день, 5 дней в неделю. Другая серия животных подвергалась хроническому воздействию 6 раз в неделю по 1 часу в день в концентрациях 1, 10 и 100 мг/л в течение 1, 3 и 6 мес. Одновременно в камеру помещали не более 10 экспериментальных животных. При этом во время затравки каждые 10–15 мин происходила равномерная подача исследуемых концентраций пыли в камеру с помощью механического устройства, по которому продвигался поршень шприца, наполненного образцом почвенной пыли определенной концентрации.

Самки родительской группы и групп 1-го и 2-го поколений подвергались воздействию исследуемой концентрации пыли в течение всего времени эксперимента (а также во время беременности). Для каждой группы было определено время воздействия (1, 3 и 6 месяцев). После 6 месяцев воздействия в каждой экспериментальной группе были отобраны животные, которые находились в восстановительном периоде в течение 1 месяца.

Выбор исследуемой концентрации пыли, и методика проведения затравки основаны на данных литературы [5]. Материалом для исследования были клетки костного мозга подопытных животных (животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом в соответствии с этическими нормами и рекомендациями работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1985)). Приготовление цитологических препаратов хромосом осуществляли по общепринятой методике для метафазного анализа с некоторыми модификациями [5]. Статистические величины определяли по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Анализ проведенных исследований показал, что практически во всех точках забора, независимо от расстояния идет накопление металлов в почвенной пыли. Более высокое содержание выявлено на расстоянии 500 метров от Балхашского горно-металлургического комбината, где наблюдается максимальное накопление Cu, Pb, As, Ni, Co, Cd. Уровень накопления было выше ПДК от 60 до 5 раз. На расстоянии 1,5 км наблюдались аналогичные изменения, где содержание Cu, Pb, Zn, As было выше ПДК от 12 до 2 раз. По мере удаления от Балхашского горно-металлургического комбината количество металлов, превышающих ПДК, уменьшилось. Это были в основном Cu, Pb, Zn, их концентрации на расстоянии 3 км превышали предельный уровень от 6 до 1,48 раз.

Результаты анализа частоты нарушений хромосом в клетках костного мозга крыс (родительские формы P), подвергнутых хроническому воздействию пыли в течение 1, 3 и 6 месяцев, выявили, что во всех вариантах эксперимента наблюдалось увеличение частоты встречаемости клеток с хромосомными абберациями по сравнению с контролем. Воздействие пыли вызывало достоверное увеличение встречаемости клеток с хромосомными абберациями в 2,03, 1,96 и 2,14 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю.

В восстановительном периоде (1 месяц, после воздействия пыли в течение 6 месяцев) в группе животных (родительские формы Р), которая не подвергалась дальнейшей интоксикации, отмечено некоторое снижение частоты встречаемости aberrантных, анеуплоидных и полиплоидных клеток, но оно все еще превышало уровень в контроле. В группе животных, которые подвергались воздействию пыли в концентрации 0,05 мг/м³, в восстановительном периоде достоверно чаще выявляли полиплоидные клетки – в 1,77 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Увеличение частоты встречаемости полиплоидных клеток в экспериментальных группах при хроническом воздействии, свидетельствует об изменении пролиферативной активности клеток костного мозга и о специфичности воздействия пыли на субклеточном уровне. В последующем, это может привести к изменению адаптации организма к неблагоприятным факторам окружающей среды. Во 2-й и 3-й группах обнаружено достоверное увеличение частоты клеток с хромосомными aberrациями: в 1,91 ($p < 0,05$) и 1,82 ($p < 0,05$) раза по сравнению с контролем. Уровни хромосомных aberrаций в контрольной группе животных соответствуют данным литературы [6].

Результаты анализа экогенетических нарушений хромосомного аппарата клеток костного мозга крыс 1-го (F₁) и 2-го (F₂) поколений, выявили, что в группе животных (F₁), подвергавшихся воздействию пыли в течение 3 месяцев в концентрациях 10 и 100 мг/л, отмечается достоверное увеличение частоты встречаемости полиплоидных клеток в 2,09 ($p < 0,05$) и 2,1 ($p < 0,05$) раза. При увеличении срока воздействия до 6 месяцев обнаружено достоверное увеличение частоты встречаемости клеток с aberrациями в 1,87 ($p < 0,05$) и 2,14 ($p < 0,05$) раза по сравнению с контролем. В этих группах также обнаружено достоверное увеличение частоты встречаемости полиплоидных клеток в 2,11 ($p < 0,05$) и 2,47 ($p < 0,05$) раза. Кроме того, во 2-й группе (100 мг/л) обнаружено также значимое увеличение частоты встречаемости анеуплоидных клеток – в 2,27 раза ($p < 0,05$) через 3 месяца, в 2,56 раза ($p < 0,05$) через 6 месяцев по сравнению с контролем, среди которых преобладали диплоидные клетки в 2,93 раза; ($p < 0,05$). В восстановительный период (1 месяц) в группе животных (F₁), которая не подвергалась дальнейшей интоксикации, наблюдается тенденция к снижению частоты встречаемости aberrантных, анеуплоидных и полиплоидных клеток, но он все еще превышает уровень в контроле.

В группе животных (F₂), подвергавшихся хроническому воздействию почвенной пыли в течение 3 месяцев в концентрациях 10 и 100 мг/л, наблюдали достоверное увеличение частоты встречаемости клеток с aberrациями в 2,22 ($p < 0,05$) и 2,23 ($p < 0,05$) раза, а также полиплоидных клеток в 2,9 и 2,99 раза относительно контроля ($p < 0,05$). При воздействии 6 месяцев, обнаружено достоверное увеличение частоты встречаемости клеток с aberrациями в 2,23 ($p < 0,05$) и 2,5 ($p < 0,05$) раза, а также с анеуплоидными наборами хромосом в 2,53 ($p < 0,05$) и 2,88 ($p < 0,05$) раза и полиплоидными – в 2,41 ($p < 0,05$) и 2,96 ($p < 0,05$) раза. В восстановительный период (1 месяц) в группе животных (F₂) наблюдали некоторое снижение частоты встречаемости aberrантных, анеуплоидных и полиплоидных клеток, но оно все еще превышало контрольные значения.

Возможно, что микрочастицы пыли, поступившие в материнский организм, способны преодолевать плацентарный барьер и индуцировать хромосомные мутации у плода, что наиболее ярко проявилось при воздействии почвенной пыли в концентрациях 10 и 100 мг/л в течение хронического периода. При цитогенетическом исследовании клеток костного мозга потомства животных из групп 2-го и 3-го поколений, которые не подвергались интоксикации, частота встречаемости клеток с aberrациями хромосом незначительно превышала спонтанный уровень. Увеличение общей частоты встречаемости aberrантных клеток происходило главным образом за счет клеток с aberrациями хроматидного типа. Этот факт свидетельствует о широком спектре мутагенного воздействия почвенной пыли [5]. Полученные результаты исследований показывают, что хроническое ингаляционное воздействие на крыс почвенной пыли в различных концентрациях вызывает значимое увеличение частоты встречаемости клеток с хромосомными aberrациями в костном мозге в ряду поколений (1,5–2,5 раза по сравнению со спонтанным уровнем).

Заключение. Полученные результаты в ходе проведенного исследования указывают на возможность перерождения клеток, что свидетельствует о возможности развития злокачественных новообразований, что представляет канцерогенный риск для населения

данного региона и свидетельствуют о реальной эколого-генетической опасности и необходимости проведения мониторинговых исследований.

Примечания:

1. Мукашева М.А., Айткулов А.М., Тыкежанова Г.М., Нугуманова Ш.М. и др. Биогеохимические особенности и экологические аспекты Центрального Казахстана. // Вестник Карагандинского Государственного Университета. Серия Биология, Медицина, География. 2008. №4(52). С. 49–52.
2. Мукашева М.А. Санитарно-гигиеническая характеристика содержания химических веществ в почве, воде поверхностных водоемов и питьевой воде города Темиртау // Здоровье и болезнь. 2009. №6(82). С. 19–24.
3. Дюсембаева Н.К., Мукашева М.А., Адилбекова А.А. Мутационный статус населения как критерий экологически обусловленной патологии // Астана медициналык журналы. 2004. № 1. С. 48–49.
4. Мукашева М.А. Уровень канцерогенной нагрузки в городе Темиртау // Новини от научные напредък – 2009: 5-я Международная научно-практ. конф. Т.5. София. 2009. С. 57–60.
5. Намазбаева З.И. Гигиеническая значимость изменений метаболического статуса организма при действии пылевого фактора окружающей среды: автореф. ... докт. мед.наук.: 14.00.07. Караганда, 1990. 44 с.
6. Демаков В.А. Методические основы гигиенической оценки мутагенности загрязнений окружающей среды и выявления генетических последствий действия реальной химической нагрузки: автореф. ... докт. мед. наук: 14.00.07. Пермь, 1998. 38 с.
7. Дружинин В.Г. Хромосомные нарушения у населения крупного промышленного региона: пространственно-временной цитогенетический мониторинг: автореф. ... докт. биол. наук.: 14.00.07. М., 2003. 37 с.
8. Намазбаева З.И. Гигиеническая оценка канцерогенного риска в условиях загрязнения окружающей среды: методические рекомендации. Астана, 2004. 44 с.

References:

1. Mukasheva M.A., Aitkulov A.M., Tykezhanova G.M., Nugumanova Sh.M. i dr. Biogeokhimicheskie osobennosti i ekologicheskie aspekty Tsentral'nogo Kazakhstana. // Vestnik Karagandinskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya Biologiya, Meditsina, Geografiya. 2008. №4(52). S. 49-52.
2. Mukasheva M.A. Sanitarno-gigienicheskaya kharakteristika sodержaniya khimicheskikh veshchestv v pochve, vode poverkhnostnykh vodoemov i pit'evoi vode goroda Temirtau // Zdorov'e i bolezni'. 2009. №6(82). S. 19–24.
3. Dyusembaeva N.K., Mukasheva M.A., Adilbekova A.A. Mutatsionnyi status naseleniya kak kriterii ekologicheski obuslovlennoi patologii // Astana meditsinalyk zhurnaly. 2004. № 1. S. 48–49.
4. Mukasheva M.A. Uroven' kantserogennoi nagruzki v gorode Temirtau // Novini ot nauchnye napred'k – 2009: 5-ya Mezhdunarodnaya nauchno-prakt. konf. T.5. Sofiya. 2009. S. 57–60.
5. Namazbaeva Z.I. Gigienicheskaya znachimost' izmenenii metabolicheskogo statusa organizma pri deistvii pylevogo faktora okruzhayushchei sredy: avtoref. ... dokt. med.nauk.: 14.00.07. Karaganda, 1990. 44 s.
6. Demakov V.A. Metodicheskie osnovy gigienicheskoi otsenki mutagennosti zagryaznenii okruzhayushchei sredy i vyyavleniya geneticheskikh posledstviy deistviya real'noi khimicheskoi nagruzki: avtoref. ... dokt. med.nauk: 14.00.07. Perm', 1998. 38 s.
7. Druzhinin V.G. Khromosomnye narusheniya u naseleniya krupnogo promyshlennogo regiona: prostranstvenno-vremennoi tsitogeneticheskii monitoring: avtoref. ... dokt. biol. nauk.: 14.00.07. M., 2003. 37 s.
8. Namazbaeva Z.I. Gigienicheskaya otsenka kantserogenного riska v usloviyakh zagryazneniya okruzhayushchei sredy: metodicheskie rekomendatsii. Astana, 2004. 44 s.

УДК 577.4:614.72

Исследование мутагенного действия городской пыли при хроническом воздействии на лабораторных животных

¹ Манара Алдешевна Мукашева

² Кирилл Олегович Осипов

³ Сабина Дулатовна Макишева

¹ Карагандинский государственный университет им Е.А.Букетова, Казахстан
100028, Карагандинская область, г.Караганда, ул.Университетская 28
Доктор биологических наук, профессор
E-mail: managa07@mail.ru

² Карагандинский государственный университет им Е.А.Букетова, Казахстан
100028, Карагандинская область, г.Караганда, ул.Университетская 28
Инженер лаборатории физиологии адаптации
E-mail: kir_sun1@mail.ru

³ Карагандинский государственный университет им Е.А.Букетова, Казахстан
100028, Карагандинская область, г.Караганда, ул.Университетская 28
E-mail: sabinka77710@mail.ru

Аннотация. В данной статье рассматриваются проблемы воздействия почвенной пыли города Балхаш в эксперименте на лабораторных животных. В городе Балхаш 35 % территории характеризуются в различной степени опасным уровнем загрязнения почвы. По всей остальной территории города фиксируются повышенные (надфоновые) концентрации токсичных элементов. Полученные результаты в ходе исследований свидетельствуют о неблагоприятном влиянии химического состава почвенной пыли в экогенетических нарушениях хромосомного аппарата клеток костного мозга крыс. В общем эксперименте было изучено 210 особей.

Ключевые слова: Центральный Казахстан; Балхашский горно-металлургический комбинат; пыль; ПДК; тяжелые металлы; хромосомные аберрации.