

И.В. Болтина, кбн.\*, Е.Р. Заец.\*\*

## КОМПЛЕКСНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ БЕРЕМЕННЫХ С ФИБРОМИОМАМИ

\* Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя, Киев

\*\* Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев

**П**рогноз и оценка неблагоприятных последствий облучения являются важной проблемой, возникающей в связи с аварией на Чернобыльской АЭС. Предполагают, что одной из основных причин отдаленных соматических эффектов, а именно канцерогенеза, являются нарушения в генетическом аппарате клетки [1]. Кроме воздействия малых доз облучения следует учитывать влияние других экологических факторов: антропогенное загрязнение тяжелыми металлами, пестицидами, нитратами, урбанизация, которая сопровождается такими явлениями как шум, электромагнитное излучение, употребление некачественных продуктов питания и воды. По данным ВОЗ, около 1,6 млрд. человек в мире подвергается воздействию загрязненного воздуха, в основном, за счет промышленных выбросов и автомобильных выхлопов. Жители больших городов представляют собой определенную группу риска относительно воздействия комплекса патогенных факторов, связанных с урбанизацией, особенно беременные женщины и дети [2,3].

Кроме вышеперечисленного, особую опасность для здоровья человека могут представлять пестициды. Первые работы, посвященные содержанию гексахлорциклогексана (ГХЦГ) в тканях человека, относятся к середине 60-х годов XX столетия. Расширение использования в сельском хозяйстве пестицидных препаратов на основе ГХЦГ, особенно после запрещения применения ДДТ, привело к накоплению в организме человека не только ГХЦГ (действующего вещества), но и сопутствующих ему  $\beta$ -,  $\alpha$ - и  $\delta$ -изомеров. Суммарные уровни содержания этих стойких ксенобиотиков могут быть соизмеримы. Уровни содержа-

ния изомеров ГХЦГ во всех органах, как правило, уменьшаются в следующей последовательности  $\beta > \gamma > \alpha > \delta$ . Изомеры ГХЦГ и их техническую смесь относят к вероятным канцерогенам для человека (группа 2B — IARC, 1987) [4].

ДДТ (4,4'-дихлордифенилтрихлорэтан) является прототипом персистентных инсектицидов широкого действия. Он химически стабилен почти при всех условиях окружающей среды, период его полураспада — от 7 до 38 лет. Следует заметить, что ДДТ не подвергается полному распаду под действием ферментов почвенных микробов и более высокоорганизованных организмов. Стабильность некоторых из его метаболитов, особенно 1,1'-(2,2-дихлорэтенилиден)-бис-[4-хлорбензол] (ДДЭ), равна или выше стабильности исходного соединения [5].

О том, что повышенное накопление ДДТ является результатом, а не причиной заболеваний, при которых оно наблюдается, свидетельствует тот факт, что у лиц, подвергающихся высокому профессиональному воздействию ДДТ, его накопление в среднем в 10 раз превосходит наибольшие величины, описанные в связи с заболеваниями. Однако у них не развивается никакого предрасположения к рассматриваемым заболеваниям и не наблюдается возрастного увеличения частоты этих заболеваний, связанных с внедрением и применением инсектицидов.

Согласно литературным данным, можно предположить существование простой зависимости доза — эффект с появлением обнаруживаемого эффекта, начиная с концентраций ДДТ между 0,2 и 0,4 мг/л и увеличением его при концентрациях выше 0,4 мг/л [6].

ГХЦГ опасен не столько своей острой токсичностью, сколько хроническим отравлением в результате длительного нахождения в организме человека. Малые дозы этого соединения при длительном воздействии не вызывают существенных изменений функциональных показателей, но они не являются безвредными для организма, т.к. биохимические сдвиги, возникающие в организме еще до появления токсических проявлений, могут оказать отрицательное влияние на иммунитет [4].

В настоящее время существуют различные подходы к проведению исследования по воздействию ксенобиотиков на здоровье человека, но, как правило, токсикологи и гигиенисты занимаются оценкой качества среды с позиций соответствия содержания отдельных загрязняющих веществ или их комбинаций нормативным показателям, а генетики — определением мутагенности отдельных компонентов или суммарных загрязнений среды, а также генетических повреждений у человека, причем эти исследования крайне редко проводятся комплексно [7].

Исходя из этого, целью работы было определить есть ли различия по цитогенетическим показателям и носительству стойких хлорорганических пестицидов, их метаболитов и изомеров в группах беременных женщин с диагнозом фибромиома без и с онкозаболеваниями в роду.

### Материалы и методы

Были обследованы пациентки (беременные женщины), находящиеся на лечении в Институте педиатрии, акушерства и гинекологии в отделении акушерства и патологии.

Всего было обследовано 38 беременных женщин, жительниц Киева и Киевской области. Из них 13 пациенток с диагнозом фибромиома без онкозаболеваний в роду — в дальнейшем: беременные с фибромиомами без о/п, средний возраст 36,4 года; 13 пациенток с диагнозом фибромиома с онкозаболеваниями в роду — в дальнейшем беременные с фибромиомой с о/п, средний возраст 32,8 года; 12 пациенток с диагнозом угроза прерывания беременности без онкозаболеваний в роду — в дальнейшем беременные с угрозой срыва, средний возраст 28 лет.

Лимфоциты культивировали соответственно общепринятому методу Хангерфорда [8] на протяжении 52 ч с модификациями, что позволяло исследовать клетки первого митоза. Отбор метафазных пластинок для цитогенетического анализа, классификация и метод подсчета aberrаций хромосом были общепринятыми [9]. Проводили анализ зашифрованных препаратов. От каждого индивидуума анализировали не меньше 100 метафаз. Статистическую обработку проводили согласно критерия Стьюдента на персональном компьютере по пакету программ Microsoft Excel.

Содержание стойких хлороорганических пестицидов (ХОП), их изомеров и метаболитов (ГХБ,  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ,  $\beta$ -ГХЦГ,  $\delta$ -ГХЦГ, 4,4'-ДДЕ, 2,4'-ДДД, 2,4'-ДДТ, 4,4'-ДДД, 4,4'-ДДТ) в крови анализировали согласно [10].

Исследуемые компоненты экстрагировали из цельной крови смесью органических растворителей хлороформ-метанол в соотношении 2:1. Очистку экстрактов осуществляли концентрированной серной кислотой, концентрирование — в вакууме на ротационном испарителе.

Определение перечисленных выше компонентов проводили методом газожидкостной хроматографии в разработанных нами условиях на хроматографе "Кристаллюкс-4000" с ЭЗД (модуль детекторов ЭЗД-ПИД-ТИД) с использованием капиллярной колонки.

Условия хроматографирования:

Капиллярная колонка фирмы "Zebtron" ZB-1, неподвижная фаза 100% полиметилсилоксан (толщина слоя 0,25 мкм), длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм. Температура колонки 200°C, детектора 300°C, испарителя 250°C, входное давление на колонку 0,75 атм, расход газа-носителя (азота особой чистоты) 40 см<sup>3</sup>/мин.

Относительная продолжительность удерживания индивидуальных компонентов смеси ХОП (время удерживания альдрина условно принято равным 1,0) приведена в табл. 1.

Компьютерное управление хроматографическим процессом и обработка хроматографической информации осуществлялись с использованием программного обеспечения "NetChrom".

Таблица 1  
**Характеристики удерживания ХОП при различных условиях газохроматографического разделения**

Название исследуемого соединения	Относительная продолжительность удерживания
ГХБ	0,30
-ГХЦГ	0,28
-ГХЦГ	0,31
-ГХЦГ	0,29
-ГХЦГ	0,32
4,4'-ДДЭ	0,81
2,4'-ДДД	0,86
4,4'-ДДД	1,03
2,4'-ДДТ	1,09
4,4'-ДДТ	1,32

#### Результаты исследований

В табл. 2 представлены результаты основных цитогенетических показателей в лимфоцитах периферической крови обследованных групп.

Наименьшая частота aberrаций хромосом наблюдается в группе беременных с угрозой срыва и составляет  $2,6 \pm 0,4\%$ . Наивысший уровень частоты aberrаций хромосом — у беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду ( $3,6 \pm 0,5\%$ ). Статистически достоверной разницы между группами беременных не существует, хотя можно говорить о тенденциях повышения

уровня aberrаций хромосом у беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду, что не противоречит литературным данным [11].

Относительно количества aberrаций на aberrантную клетку — наибольшее (1,1) в группах беременных с угрозой срыва и с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду. Наибольшее количество aberrаций на проанализированную клетку — в группе беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду, наименьшее — у беременных с угрозой срыва.

Спектр частоты aberrаций хромосом смещен в сторону aberrаций хроматидного типа, что может свидетельствовать о влиянии факторов химической природы [12]. Кроме того, наибольшее количество обменов наблюдается в группах беременных с угрозой срыва (10 %) и с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду (10,5 %). Наименьшее количество aberrаций хроматидного типа (77,5 %) и, соответственно, наибольшее количество aberrаций хромосомного типа (22,5 %) — у беременных с фибромиомами без онкозаболеваний в роду.

Из данных табл. 4 видно, что наибольшее количество анеуплоидных (общее — 17,5%) и гипоплоидных клеток (63,3 %) наблюдается в группе беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду, что, возможно, не случайно.

Один из цитогенетических показателей — количество мультиаббер-

Таблица 2

#### Цитогенетические показатели лимфоцитов периферической крови в обследованных группах

Группы беременных	Всего метафаз	Количество					
		абerrантных клеток		абerrаций			
		абс. число	M $\pm$ m, min-max, %	всего	на абerrантную клетку	на проанализированную клетку	
С угрозой срыва	1320	36	2,7 $\pm$ 0,4 2,0 — 3,3	40	1,1	0,030	
С фибромиомами	без о/п	1245	40	3,2 $\pm$ 0,5 2,7 — 5,8	40	1,0	0,032
	с о/п	1460	53	3,6 $\pm$ 0,5 2,7 — 4,4	58	1,1	0,040

Спектр aberrаций в обследованных группах

Группы беременных	Аберрации							
	всего	хроматидного типа			хромосомного типа			
		□	одиночные фрагменты	обмены	□	парные фрагменты	Ацентрические кольца	
С угрозой срыва	40 <b>100,0</b>	35 <b>87,5</b>	31 <b>77,5</b>	4 <b>10,0</b>	5 <b>12,5</b>	4 <b>10,0</b>	1 <b>2,5</b>	
С фибромиомами	без о/п	40 <b>100,0</b>	31 <b>77,5</b>	28 <b>70,0</b>	3 <b>7,5</b>	9 <b>22,5</b>	6 <b>15,0</b>	3 <b>7,5</b>
	с о/п	58 <b>100,0</b>	50 <b>86,3</b>	44 <b>75,8</b>	6 <b>10,5</b>	8 <b>13,7</b>	6 <b>10,3</b>	2 <b>3,4</b>

Таблица 4

Количество анеуплоидных клеток в обследованных группах

Группы беременных	Всего метафаз	Количество анеуплоидных клеток			
		абс. число	$M \pm m$ , min-max, %	гипо — n/%	гипер — n/%
С угрозой срыва	1320	174 <b>100</b>	13,2±0,9 <b>11,0 — 15,0</b>	98 <b>56,3</b>	76 <b>43,6</b>
С фибромиомами	без о/п	210 <b>100</b>	16,8±0,9 <b>12,5 — 20,5</b>	136 <b>64,7</b>	74 <b>35,3</b>
	с о/п	256 <b>100</b>	17,5±0,9 <b>15,5 — 21,3</b>	162 <b>63,3</b>	94 <b>36,7</b>

рантных клеток (МАК), которые известны в зарубежной литературе под названием "Rogue cells". Допускают, что одной из причин возникновения МАК есть выход энзимов из разрушенных бактерий, которые не протеолизуются в цитоплазме, и, достигая ядра клетки, вызывают многочисленные нарушения в хромосомном аппарате. Возможно, что возникновение МАК ведет к активации протоонкогенов, в результате чего может возникнуть опухолевый процесс [13]. К мультиабберрантным клеткам относили метафазы, в которых было больше 2 aberrаций.

Из данных табл.5 видно, что в группе беременных с фибромиомами без онкозаболеваний в роду не обнаружено мультиабберрантных клеток. Наибольшее количество мультиабберрантных клеток отмечено у беременных с угрозой срыва — 11,1 %.

Данные о содержании ГХЦГ и его изомеров в группах обследованных представлены в табл. 6, из которой видно, что наибольшее суммарное содержание ГХЦГ — в группе беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду (286,7 мкг/л).

В окружающей среде образуется множество продуктов трансформа-

ции ДДТ. 20 из них идентифицировано, но для ряда других соединений химическая структура остается неизвестной. Известно, что ДДА является основным метаболитом ДДТ, выделяющимся с мочой всех млекопитающих, в том числе и человека. В тканях также обнаруживается ДДД (1,1'-(2,2-дихлорэтилен)-бис-[4-хлорбензол]) — промежуточное соединение при образовании основного выводимого продукта, которым является 2,2-бис(4-хлор фенил)-уксусная кислота (ДДА). Некоторые пищевые продукты содержат ДДЭ, в организме человека этот продукт может образо-

Таблица 5

Содержание мультиабберрантных клеток в обследованных группах

Группы беременных	Всего клеток с aberrациями	Мультиабберрантные клетки	
		абс. число	%
С угрозой срыва	36	4	11,1
С фибромиомами	без о/п	40	0
	с о/п	53	4

Таблица 6

Данные о содержании ГХЦГ и его изомеров (мкг/л) в группах обследованных

Группы беременных	ГХБ	$\alpha$ ГХЦГ	$\gamma$ ГХЦГ	$\beta$ ГХЦГ	$\delta$ ГХЦГ	□ ГХЦГ	
С угрозой срыва	5,3	3,9	6,0	2,2	2,2	13,0	
С фибромиомами	без о/п	5,4	3,9	11,2	19,7	1,6	28,6
	с о/п	5,9	2,9	11,5	3,6	4,6	286,7

вываться из ДДТ, но точный механизм трансформации остается неясным. Независимо от причины, остается фактом, что ДДЭ накапливается интенсивнее, чем ДДТ [6].

С целью анализа метаболизма ДДТ были рассчитаны средние значения содержания метаболитов к исходному веществу (К4,4'-ДДЭ/4,4'-ДДТ и К4,4'-ДДД/4,4'-ДДТ).

Исходя из данных табл.7, можно сделать следующие выводы:

— наибольшее значение ДДЭ — в группе беременных с угрозой срыва (412,0 мкг/л), наименьшее — у беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду

(286,7 мкг/л);

— наибольшее суммарное значение ДДТ также в группе беременных с угрозой срыва — 446,3 мкг/л, наименьшее — у беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду;

— наименьший коэффициент метаболизма ДДЭ (среднего значения содержания метаболитов к исходному веществу К4,4'-ДДЭ/4,4'-ДДТ) у беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду, то есть метаболизм идет наименее интенсивно и происходит накопление ДДТ в организме.; — метаболизм ДДД идет приблизи-

тельно одинаково во всех группах беременных.

Таким образом, в результате исследований было установлено, что для группы беременных с угрозой срыва характерны наименьшая частота aberrаций хромосом, наибольшее количество обменов и мультиабберрантных клеток, а также наибольшее суммарное значение ДДТ; для группы беременных с фибромиомами с онкозаболеваниями в роду характерны наибольшая частота aberrаций хромосом, наибольшее количество обменов и анеуплоидных клеток, наибольшее суммарное содержание ГХЦГ.

Таблица 7

Содержание ДДТ и его метаболитов (мкг/л) в группах обследованных

Группы беременных	4,4' ДДЭ	2,4' ДДД	2,4' ДДТ	4,4' ДДД	4,4' ДДТ	□ ДДТ	К4,4'ДДЭ/4,4'ДДТ	К4,4'ДДД/4,4'ДДТ	
С угрозой срыва	412,0	40,6	10,8	7,3	9,4	446,3	77,7	2,4	
С фибромиомами	без о/п	346,2	16,6	21,7	10,0	9,7	387,8	147,7	2,9
	с о/п	286,7	38,6	18,0	6,7	17,0	348,4	24,0	2,0

#### ЛИТЕРАТУРА

- Снигирева Г.П., Любченко П.Н., Шевченко В.А. и др. Результаты цитогенетического обследования участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС через 5 лет // Гематология и трансфузиология. — 1994. — Т. 39, № 3. — С. 19 — 21.
- Жабченко І.А., Бондаренко О.М., Демченко В.Ф., Демченко П.І. Роль пектинопрофілактики у зниженні негативного впливу чинників довкілля на організм вагітних та новороджених // Вісник наукових досліджень. — 2002. — № 2. — С. 84-87.
- Антипенко Е.Н., Проданчук Н.Г. Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье. // Мед. вести. — 1997. — № 4. — С. 7-9.
- Демченко В.Ф. Гигиенические аспекты биомониторинга хлорорганических пестицидов. Автореф. дис... канд. биол. наук: 14.00.07. — К.: ВНИИГИНТОКС, 1989. — 318с.
- Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Мережко А.И. Персистентные пестициды в экологии пресных вод. — Киев: Наукова думка, 1979. — 141 с.
- Гигиенические критерии состояния окружающей среды. ДДТ и его производные // ВОЗ, Женева, 1982. — 215 с
- Ревазова Ю.А., Ингель Ф.И., Цуцман Т.Е. и др. Методология проведения комплексных генетико — токсикологических исследований // Вестник РАМН. — 1997. — № 7. — С. 18-23.
- Hungerford D.A. Leucocytes cultured from small inocula of whole blood and preparation methaphase chromosomes by treatment with hypotic KCl // Stain Techn. — 1965. — Vol. 40. — P. 333-338.
- Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И. Хромосомы человека : Атлас. — М.: Медицина, 1982. — 263 с.
- Методические указания по избирательному газохроматографическому определению хлорорганических пестицидов в биологических средах. (Дополнение к № 1112-73), утвержденные 27.11.84 за № 3151-84.
- Цитологическая реактивность онкологического больного/ (под ред. проф. К. П. Ганиной). — Киев: Наукова думка, 1995. — 150 с.
- Бративнык Л.И. Изучение мутагенной активности и потенциальной мутагенной опасности некоторых кумаринопроизводных, металлосодержащих и бромсодержащих веществ, рекомендованных для использования в качестве пестицидов: Автореф. дис... канд. биол. наук: 030015. — Минск, 1991. — 24 с.
- Пилинская М.А., Шеметун А.М., Дыбский С.С. и др. Выявление мультиабберрантных лимфоцитов при цитогенетическом обследовании различных групп людей, контактирующих с мутагенными факторами // Цитология и генетика. — 1994. — Т. 28, № 1. — С. 27-32.

*І.В.Болтіна, Є.Р.Засць*  
**КОМПЛЕКСНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ВАГІТНИХ З ФІБРОМІОМАМИ**

На основі проведених досліджень виявлені залежності між вмістом хлорорганічних пестицидів (ХОП) у крові обстежуваних пацієнтів та їхніми цитогенетичними показниками.

*I.V.Boltina, E.R. Zaets*  
**THE COMPLEX EXAMINE OF THE PREGNANTS WITH FIBROMIOMS**

The results of the established dependence between the contents of stable chlororganic pesticides and chromosomal aberration in the patients are adduced.