

УДК 574.24: 574.21
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.1.12885

М. В. Каськів, О. П. М'ялюк

КЗВО «Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ЯК МЕТОД ІНТЕГРАЛЬНОЇ ОЦІНКИ УРБАНІЗОВАНИХ ТЕРИТОРІЙ МІСТА РІВНЕ, АНАЛІЗ СТАНУ ПРОБЛЕМИ

Цитогенетичний моніторинг як метод інтегральної оцінки урбанізованих територій міста Рівне, аналіз стану проблеми

М. В. Каськів, О. П. М'ялюк

КЗВО «Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради

Cytogenetic monitoring as a method of integrated assessment of urbanized territories of Rivne city, analysis of the state of the problem

M. V. Kaskiv, O. P. Mialiuk

Rivne Medical Academy

e-mail: oksankamp@ukr.net

Резюме. Серед міст України за кількістю населення та параметричними характеристиками техногенного впливу на урбоекосистеми помітно вирізняється м. Рівне. В його атмосферному повітрі регулярно фіксуються перевищення різних мутагенів. З огляду на це, виникла необхідність контролю над процесами забруднення атмосферного повітря міста, дослідження природи дії мутагенних речовин, запобігання наростанню техногенного забруднення та пошуку засобів і методів захисту живих організмів від мутагенного впливу.

Мета дослідження – провести біоіндикацію урбоекосистеми м. Рівне за показниками цитогенетичного моніторингу.

Матеріали і методи. Для оцінки екологічної ситуації за загальним мутагенним фоном ми використовували скринінговий експрес-метод – мікроядерний тест (МЯ-тест). Для виявлення клітин із мікроядрами відбирали мазки слизової оболонки ротової порожнини 167 дітей дошкільного віку (6–7 років), які проживають на 12-ти досліджуваних тест-полігонах. Відбір зразків проводили у стерильних умовах, з правої та лівої щок і нижньої губи. Аналіз препаратів клітин виконували за допомогою мікроскопа. Досліджено 64 950 епітеліальних клітин слизової оболонки.

Результати. Згідно з екологічними картами, територія міста, що знаходиться в межах III, IV, IX, X та XII тест-полігонів, має «низький» рівень генетичних ушкоджень, що зумовлює «еталонну» екологічну ситуацію за мутагенним фоном. Такі характеристики дозволяють оцінити стан урбоекосистеми на даній території міста як «сприятливий». Проте аналіз ситуації на окремих тест-полігонах дозволяє відмітити, що північно-східна (III та IV тест-полігони) та південно-східна (XII тест-полігон) частини міста мають дещо вищі показники рівню генетичних ушкоджень порівняно з південно-західною (IX та X тест-полігони) частиною. Решта тест-полігонів має «нижчий за середній» рівень генетичних ушкоджень, що зумовлює «задовільну» екологічну ситуацію за мутагенним фоном та «насторожуючий» стан

Summary. Among the cities of Ukraine, in terms of population and parametric characteristics of man-made impact on urban ecosystems, the city of Rivne stands out. Excesses of various mutagens are regularly recorded in its atmospheric air. In view of this, there is a need to control the processes of air pollution in the city, study the nature of mutagenic substances, prevent the growth of man-made pollution, and find means and methods to protect living organisms from mutagenic effects.

The aim of the study – to conduct a bioindication of the urban ecosystem of Rivne on the indicators of cytogenetic monitoring.

Materials and Methods. To assess the environmental situation against the general mutagenic background, we used a rapid screening method – micronucleus test (MN test). To detect cells with micronuclei, smears were taken from the oral mucosa of 167 preschool children (6–7 years old) living on 12 test sites. Sampling was performed under sterile conditions, from the right, left cheek and lower lip. Analysis of the prepared cells was performed using a microscope. 64950 epithelial cells of the mucous membrane were studied.

Results. According to ecological maps, the territory of the city, which is within III, IV, IX, X, and XII test sites, has a "low" level of genetic damage, which determines the "reference" ecological situation on a mutagenic background. Such characteristics allow us to assess the state of the urban ecosystem in this area of the city as "favorable". However, the analysis of the situation on some test sites allows us to note that the northeastern (III and IV test sites) and the south-eastern (XII test site) parts of the city have slightly higher rates of genetic damage compared to the south-western (IX and X test sites) part. The rest of the test sites have a "below average" level of genetic damage, which causes a "satisfactory" environmental situation with a mutagenic background and an "alarming" state of the urban ecosystem. At the same time, the highest values of the MN test of epitheliocytes of preschool children are characteristic of the north-western (I test site) and south-eastern. The

урбоєкосистеми. При цьому найвищі значення показників МЯ-тесту епітеліоцитів дітей дошкільного віку характерні для північно-західної (I тест-полігон) та південно-східної. Отримана залежність та високий коефіцієнт детермінації (0,35) вказують на суттєвий зв'язок між МЯ-індексом і стерильністю пилку індикаторних рослин, які проводились на аналогічних 12-ти тест-полігонах. Попри це необхідно зауважити, що вразливість зерен пилку рослин біоіндикаторів була значно вищою (за ушкодженням), порівняно з МЯ-індексом, що пояснюється вищою стійкістю до екологічних факторів дітей порівнянні з зернами пилку рослин-індикаторів.

Висновки. Аналіз результатів досліджень вказує, що урбоєкосистема м. Рівне перебуває на рівні «нижчому за середній» генетичних ушкоджень, «насторожуючий» за станом біосистеми, «задовільний» за мутагенним фоном.

Ключові слова: клітини епітелію; мікроядерний тест; цитогенетичні ушкодження; біоіндикація.

ВСТУП

Забруднення довкілля мутагенами хімічного, фізичного та біологічного походжень набуває катастрофічного і глобального характеру. Мутагенами можуть бути різні чинники, що викликають зміни на клітинному рівні біоти, в структурі генів, змінюють структуру і кількість хромосом, що призводить до змін стану здоров'я людей. За походженням мутагени класифікують на ендогенні, що утворюються в процесі життєдіяльності організму, й екзогенні – всі інші фактори, в тому числі та умови навколишнього середовища. Як правило, таку дію мають різноманітні сполуки, які викидають в повітря підприємства, що спалюють вугілля, нафту, а також різноманітні види транспорту. Хімічні елементи різними шляхами і в різних дозах потрапляють в організм людини, завдаючи йому і шкоду. Їх міграція в екосистемах відбувається за участі повітря, води, колоїдних розчинів і внаслідок техногенних процесів. На їх переміщення впливають внутрішні і зовнішні фактори [1].

Попередніми дослідженнями доведено, що збільшення мутагенного навантаження до рівня, здатного подвоїти частоту виникнення мутацій у людини, може призвести до змін стану здоров'я. Унаслідок дії мутагенів відбуваються зміни у соматичних клітинах, які дістали назву соматичних мутацій. Необхідно відмітити, як наслідок соматичних мутацій є ракове переродження. Злоякісний ріст викликаний канцерогенами, серед яких найпоширеніші радіація та хімічні сполуки. Доведено й пряму кореляцію між вмістом бензапірену в атмосферному повітрі та смертністю від раку сечостатевої системи та органів дихання. Так, за даними Рівненського онкологічного диспансеру за 2010–2016 рр., рівень онкозахворювань серед населення м. Рівне продовжує зростати.

obtained dependence and high coefficient of determination (0.35) indicate a significant relationship between the MN index and pollen sterility of indicator plants, which were performed on similar 12 test sites. Nevertheless, it should be noted that the vulnerability of pollen grains of bioindicator plants was significantly higher (in terms of damage) compared to the MN index, which is explained by the higher resistance to environmental factors of children compared to pollen grains of indicator plants.

Conclusions. Analysis of research results indicates that the urban ecosystem of Rivne is at a level "below average" of genetic damage, "alarming" in the state of the biosystem, and "satisfactory" in the mutagenic background.

Key words: epithelial cells; micronucleus test; cytogenetic damage; bioindication.

Тому необхідним є розв'язання таких проблем, як контроль над процесами забруднення навколишнього середовища мутагенами, запобігання наростанню мутагенного забруднення, розуміння походження дії мутагенів, пошуків засобів моніторингу та захисту організму людини від їх негативного мутагенного впливу.

Сучасна оцінка стану екологічних систем, територіальних природних комплексів, окремих об'єктів навколишнього середовища здійснюється за різними екологічними стандартами й нормативами. Серед них найважливішими є нормативи якості довкілля, які висвітлюють у показниках гранично допустимих концентрацій (ГДК) шкідливих речовин у окремих об'єктах навколишнього середовища [2]. Однак такі підходи до оцінки стану об'єктів довкілля базуються лише на інструментальних фізико-хімічних методах аналізу та орієнтовані на контроль до відповідності нормованих показників.

Так як традиційні методи оцінки стану об'єктів навколишнього середовища шляхом хімічного аналізу та вимірюванням радіоактивного фону не можуть відобразити сумарної дії різних забруднювачів довкілля, ця проблема може бути вирішена з використанням індикаторних біотестів, серед яких цитогенетичні є найбільш інформативними, високочутливими і достатніми для адекватних оцінок [3]. Тому останнім часом спостерігаємо цілком обґрунтовану тенденцію необхідності оцінки стану довкілля урбанізованих територій не тільки традиційними фізико-хімічними методами, а й шляхом використання методів біоіндикації. Біоіндикаційні методи дозволяють визначити комплексну дію усіх забруднювачів, присутніх у об'єктах навколишнього середовища; є високочутливими і достатніми для адекватних оцінок [4].

Серед міст України за кількістю населення та параметричними характеристиками техногенного впливу на урбоєкосистеми помітно вирізняється м. Рівне. В його атмосферному повітрі регулярно фіксуються перевищення ГДК, діоксину азоту, бензапірену, оксиду вуглецю, фенолу, ідентифікуються діоксини сірки, формальдегіду та інших мутагенів. З огляду на це, виникла необхідність контролю над процесами забруднення атмосферного повітря міста, дослідження природи дії мутагенних речовин, запобігання наростанню техногенного забруднення, та пошуку засобів і методів захисту живих організмів від мутагенного впливу.

На сьогодні біоіндикацію вважають найбільш достовірним методом при вивченні антропогенного впливу на навколишнє середовище. Загальновизнаною є думка, що біоіндикація може використовуватися на різних рівнях організації живої матерії: молекулярному, клітинному, організмовому, популяційному, біоценозному. З підвищенням рівня організації біологічних систем зростає і їх складність, так як одночасно все більше ускладнюються їх взаємозв'язки з факторами місцезнаходження [5].

У сучасних умовах біоіндикаційні дослідження на рівні макроорганізмів проводяться за двома основними напрямками: фіто- та зооіндикація. Досліджуючи території за сумарним мутагенним фоном, А. І. Курінний запропонував систему методів регіонального картографування територій. Як індикатори він використовує вищі рослини, а також результати цитогенетичного обстеження населення, що проживає на досліджуваній території.

На думку В. Ф. Шуйського, Д. С. Петрова та Т. В. Максимова індикатором стану водних екосистем може бути зоопланктон – угруповання нижчих водних безхребетних тварин.

Вчені-дослідники В. Крилов, А. І. Сабурцев, С. С. Сокальський встановили, що медоносні бджоли відносяться до виключно зручного і найбільш доцільного екологічного моніторингу, що забезпечує збереження і раціональне використання природних ресурсів. Цей метод отримав назву апіномоніторинг. Дослідження з використання бджолиних сімей у ролі біоіндикаторів в системі екологічного апіномоніторингу показали, що бджола має здатність акумулювати важкі метали і виступати в ролі організму-очисника.

І. Й. Случик, провівши дослідження атмосферного повітря на Західній Україні, а саме в Івано-Франківську, довів вплив техногенного забруднення довкілля в умовах урболандшафту на мітотичну активність меристеми зачаткових листків та рівень аберацій хромосом в соматичних клітинах *P. berolinensis* і *P. simonii*.

Усі біоіндикаційні дослідження різних видів рослин, тварин, які були описані сьогодні, вказують на екологічну ситуацію урбоєкосистеми та пропо-

нують шляхи її поліпшення, однак діючі вітчизняні нормативи не оцінюють ризик для здоров'я людини від забруднювачів атмосферного повітря. Тому сьогодні виникає необхідність застосування інших методів оцінки стану навколишнього середовища, за допомогою яких можливо зробити науково-обґрунтований прогноз змін у здоров'ї населення залежно від впливу факторів довкілля. Одним із таких методів є методологія оцінки ризику для здоров'я населення від забруднювачів навколишнього середовища, яка дає можливість визначити реальні навантаження на організм людини шкідливих речовин та здійснити кількісну оцінку ризику виникнення захворювань.

На нашу думку, найдоцільніше є використання методів біоіндикації у поєднанні фітоіндикації «Стерильність пилку рослин біоіндикаторів» та цитогенетичних методів дослідження. Доцільно зазначити, що великою популярністю користується скринінг за uszkodженням хромосом, так званий мікроядерний тест (МЯ-тест). Метод відрізняється простотою і оперативністю [6].

Перші методи фітоіндикації в екологічних дослідженнях м. Рівне застосували М. О. Клименко, Н. Р. Хоміч. Оцінювали стан довкілля за допомогою трав'яних рослин, а саме, визначення частоти стерильних клітин пилку рослин біоіндикаторів, що ростуть на досліджуваних тест-полігонах [7].

Метою дослідження було проведення біоіндикації урбоєкосистеми м. Рівне за показниками цитогенетичного моніторингу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для виявлення клітин із мікроядрами відбирали мазки слизової оболонки ротової порожнини 167 дітей дошкільного віку у віці 6–7 років, які проживають на 12-ти досліджуваних тест-полігонах. Перші клітини, які вступають в контакт із газоподібними генотоксинами навколишнього середовища, є клітини слизової оболонки ротової порожнини. Відбір зразків проводився у стерильних умовах, з правої та лівої щок і нижньої губи, за попередньою згодою батьків, отриманої на підставі авторського анкетування. Аналіз препаратів клітин проводили за допомогою біологічного тринокулярного мікроскопа із загальним збільшенням у 800 разів. Досліджено 64 950 епітеліальних клітин слизової оболонки.

Вибір на користь дошкільної вікової категорії населення пов'язують з тим, що діти зазнають мінімальної добової міграції, не мають у життєвому анамнезі контактів з виробничими факторами, шкідливих звичок (тютюнокуріння, вживання алкоголю), які можуть псувати цитогенетичну картину організму дорослої людини, і забезпечені, як правило, більш систематичним медичним наглядом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

На формування екологічного стану м. Рівне впродовж останніх 20 років впливали такі антропогенні чинники, як викиди шкідливих речовин в атмосферу від підприємств в кількості 2060,4–5889,5 т на рік, автотранспорту – 6820–16 200 т на рік. Зростання поширення більшості хвороб у населення м. Рівне відбувається під впливом зростаючих обсягів надходження до атмосферного повітря міста забруднювальних речовин від пересувних джерел (автотранспорту). Збільшення показників захворюваності дитячого та дорослого населення міста корелює ($R^2 > 0,7$) з величинами обсягів викидів забруднювальних речовин як від стаціонарних, так і пересувних джерел, а також величинами сумарних викидів від них (або їх сумарних викидів). За показниками цитогенетичного моніторингу урбоекосистема м. Рівне поділена на зони найбільшого (перевищення ГДК забруднювальних речовин становить 3–4 рази) та найменшого (перевищення ГДК забруднювальних речовин становить 1–2 рази) забруднення атмосферного повітря. Ці зони відрізняються наявністю або відсутністю підприємств, інтенсивністю руху автотранспорту та характером забудови.

Відповідно до шкали оцінювання рівня генетичних ушкоджень та оцінки екологічної ситуації за мутагенним фоном, згідно з методикою, стан дітей на I, II, VI, VIII, XI тест-полігонах визначався за такою градацією: рівень ушкодження клітин «нижчий від середнього»; станом дитячого організму за цитогенетичним статусом «насторожуючий»; екологічна ситуація за мутагенним фоном «задовільна».

На тест-полігонах III, IX та XII рівні ушкодження клітин оцінювався як «низький», стан дитячого організму за цитогенетичним статусом як «благополучний», а екологічна ситуація за мутагенним фоном відповідала рівню «еталонна».

Якісні характеристики стану урбоекосистеми м. Рівне, які ми отримали, дозволили зробити спробу просторового відображення екологічної ситуації за цитогенетичними ушкодженнями та мутагенним фоном у вигляді екологічних карт.

Територія міста, яка знаходиться в межах III, IV, IX, X та XII тест-полігонів має «низький» рівень генетичних ушкоджень, що зумовлює «еталонну» екологічну ситуацію за мутагенним фоном. Такі характеристики дозволяють оцінити стан урбоекосистеми на даній території міста як «сприятливий». Проте аналіз ситуації на окремих тест-полігонах дозволяє відмітити, що північно-східна (III та IV тест-полігони) та південно-східна (XII тест-полігон) частини міста мають дещо вищі показники рівнів генетичних ушкоджень порівняно з південно-західною (IX та X тест-полігони) частиною.

Інша частина м. Рівне, до якої належить решта тест-полігонів, має «нижчий за середній» рівень генетичних ушкоджень, що зумовлює «задовільну» екологічну ситуацію за мутагенним фоном та «насторожуючий» стан урбоекосистеми. При цьому найвищі значення показників МЯ-тесту епітеліоцитів дітей дошкільного віку характерні для північно-західної (I тест-полігон) та південно-східної.

Генетичні зміни у клітинах слизової оболонки порожнини рота дітей дошкільного віку, які проживають у тест-полігонах із різним техногенним навантаженням характеризуються різними показниками мікроядерного індексу на одну клітину (0,017–0,037) та умовним показником пошкодзованості (0,094–0,203).

Значний інтерес викликає також наявність залежності між показниками, які належать до групи індикаторів біотестування, а саме: МЯ-індексу слизової оболонки ротової порожнини дітей дошкільного віку та частота стерильних клітин пилку рослин фітоіндикаторів, що ростуть на досліджуваних тест-полігонах (рис.).

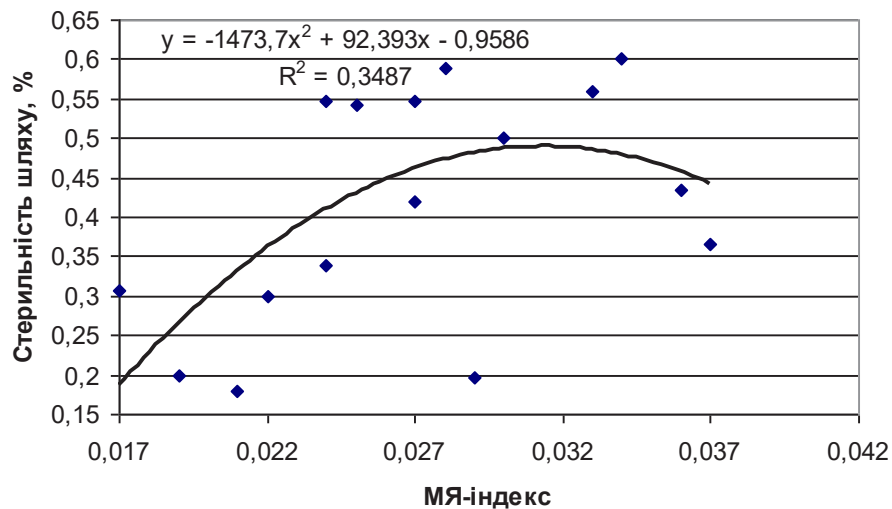


Рис. Залежність між УПП (стерильність пилку) та МЯ-індексом.

Як видно з рисунка, залежність між МЯ-індексом слизової оболонки і стерильністю пилку описується рівнянням параболи 2-го порядку з коефіцієнтом детермінації 0,35. Отримана залежність та високий коефіцієнт детермінації вказує на суттєвий зв'язок між МЯ-індексом і стерильністю пилку індикаторних рослин, які проводились на аналогічних 12-ти тест-полігонах. Попри це варто зауважити, що вразливість зерен пилку рослин біоіндикаторів була значно вищою (за ушкодженням), порівняно з МЯ-індексом, що пояснюється вищою стійкістю до екологічних факторів дітей порівняно із зернами пилку рослин-індикаторів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Wang Fenjuan. Radon Natural Radioactivity Measurements for Evaluation of Primary Pollutants / Fenjuan Wang, Zhenyi Zhang, Maria Pia Ancora, Xiaodong Deng, Hua Zhang // *The Scientific World Journal*. – 2013, Article ID 626989. – P. 5.
2. Dixon Daryl. Understanding radon sources and mitigation in buildings henry / Daryl Dixon // *Stewart Publicity Journal of Building Appraisal*. – 2005. – No. 2. – P. 164–176.
3. Микроядра как маркеры хромосомных изменений клеток / И. Б. Бродский, С.А. Брянцева, А. М. Ковалев [и др.] // *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. – Ростов-на-Дону : Ростовский гос. медицинский ун-т. – 2012. – № 1. – С. 4–9.
4. Гераськин С. А. Биологический контроль окружающей среды / Гераськин С. А., Сарапульцева Е. И. – Ге-

REFERENCES

1. Fenjuan Wang, Zhenyi Zhang, Maria Pia Ancora, Xiaodong Deng, and Hua Zhang. Radon Natural Radioactivity Measurements for Evaluation of Primary Pollutants. *The Scientific World Journal*. 2013;Article ID 626989:5.
2. Dixon Daryl. Understanding radon sources and mitigation in buildings henry. *Stewart publicity journal of building appraisal*. 2005;2:164-76.
3. Brodskiy IB, Bryantseva SA, Kovaleva AM, Uryupova EF, Gusev SA, Sergienko VI, Matishov DG. Micronuclei as markers of chromosomal changes in cells *Journal of Fundamental Medicine and Biology*. Rostov State Medical University. 2012;1: 4-9. Russian.
4. Geraskin SA, Sarapultseva EI. Biological control of

ВИСНОВКИ

Ми показали важливість та перспективність напрямку природоохоронних заходів, а саме, обґрунтували теоретичні та практичні аспекти інтегральної оцінки екологічного стану техногенно змінених тест-полігонів м. Рівне за допомогою методів цитогенетичної біоіндикації. Аналіз результатів досліджень вказує, що урбоекосистема м. Рівне перебуває на рівні, «нижчому за середній» генетичних ушкоджень, «насторожуючий» за станом біосистеми, «задовільний» за мутагенним фоном. На основі власних спостережень та огляду наукових публікацій розглянули перспективність використання цитогенетичної біоіндикації для інтегральної оцінки екологічного стану урбанізованих територій.

нетический мониторинг. – М. : Академия, 2010. – 138 с.

5. Крысанов Е. Ю. Некоторые аспекты цитогенетического мониторинга / Е. Ю. Крысанов, К. Г. Орджоникидзе // *Жизнь Земли: междисциплинарный научно-практический журнал*. – М. : МГУ, 2018. – Т. 40, № 4. – С. 403–407.

6. Normann C. A. Micronuclei in red blood cells of armored catfish *Hypostomus plecostomus* exposed to potassium dichromate / C. A. Normann, J. C. Moreira, V. V. Cardoso // *African Journal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7 (7). – P. 893–896.

7. Fagr, Kh. All. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution / Kh. All.Fagr, A. M. El-Shehawi, M. A. Seehy // *African Journal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7 (5). – P. 606–612.

the environment. Genetic monitoring. Генетический мониторинг [Биологический контроль окружающей среды]. Moscow: Akademiya; 2010. Russian.

5. Krysanov EYu, Ordzhonikidze KG. Certain aspects of cytogenetic monitoring [Некоторые аспекты цитогенетического мониторинга]. Moscow: MSU. 2018;40(4): 403-07. Russian.

6. Normann CA, Moreira JC, Cardoso VV. Micronuclei in red blood cells of armored catfish *Hypostomus plecostomus* exposed to potassium dichromate. *African Journal of Biotechnology*. 2008;7(7): 893-96.

7. Fagr KhAll, El-Shehawi AM, Seehy MA. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. *African Journal of Biotechnology*. 2008;7(5): 606-12.