

ПРИМЕНЕНИЕ БУККАЛЬНОГО МИКРОЯДЕРНОГО ЦИТОМНОГО ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА МЕДПЕРСОНАЛА, КОНТАКТИРУЮЩЕГО С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

© 2022 г. К. И. Кирсанов^{1,2}, Л. П. Сычева³ *, Е. А. Лесовая^{1,4}, Е. М. Жидкова¹, О. А. Власова¹,
А. В. Осипова^{1,5}, Е. С. Лылова¹, Д. Д. Григорьева¹, Е. М. Кулакова¹, Л. Г. Соленова¹,
Г. А. Белицкий¹, И. Н. Михайлова¹, М. Г. Якубовская¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, 115478 Россия

²Российский университет дружбы народов, Москва, 117198 Россия

³Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна, Москва, 123182 Россия

⁴Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Рязань, 390026 Россия

⁵Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова, Москва, 111123 Россия

*e-mail: lpsycheva@mail.ru

Поступила в редакцию 25.11.2021 г.

После доработки 09.12.2021 г.

Принята к публикации 14.12.2021 г.

Медперсонал химиотерапевтических отделений регулярно контактирует с противоопухолевыми препаратами, обладающими генотоксическими свойствами. Впервые проведен анализ цитогенетического статуса медперсонала (54 человека) с использованием нового перспективного неинвазивного метода – буккального микроядерного цитомного теста с расчетом интегральных показателей. Эффект оценивали при разной продолжительности воздействия химиопрепаратов – после выхода сотрудника из отпуска, через месяц после отпуска и перед отпуском. Выявлены статистически значимые повышения практически всех исследованных показателей цитогенетических нарушений, пролиферации и апоптоза по сравнению с контрольной группой офисных работников (47 человек). Среди медперсонала установлено увеличение доли людей с повышенным уровнем цитогенетических нарушений при максимальной продолжительности экспозиции с 24 до 38% (в контроле 11%). Среди онкобольных (9 человек) доля лиц с высоким уровнем цитогенетических нарушений составила 56% до проведения очередного курса химиотерапии и 87% после его проведения.

Ключевые слова: буккальный микроядерный цитомный тест, противоопухолевые препараты, цитогенетические нарушения, медперсонал химиотерапевтических отделений, болезни злокачественными новообразованиями.

DOI: 10.31857/S0016675822050058

Проблема риска развития онкологических заболеваний у медицинских работников онкологического профиля была поднята в 1970-х гг. после проведения первых эпидемиологических исследований. Поскольку развитие онкогенных процессов при действии различных факторов связано в основном с повреждением ДНК, были начаты экспериментальные исследования и выявлены генотоксические свойства ряда препаратов, применяющихся при химиотерапии онкобольных. В настоящее время по классификации Международного агентства по изучению рака (МАИР) 14 противоопухолевых химиопрепаратов, проявляющих в том числе генотоксическое действие, отнесены к канцерогенам для человека [1]. Цикло-

фосфамид, азатиоприн, бусульфид, хлорамбуцил, этопозид, мелфалан являются доказанными канцерогенами (группа 1), азацитидин, адриамицин, цисплатин, тиотепа, треоосульфид и семустин – вероятными канцерогенами (группа 2А), хлорозотоцин, блеомицин, дакрбазин, дауномицин и митоксантрол – возможными (группа 2В). Эти препараты применяют не только при лечении онкологических заболеваний, но и в ревматологии, трансплантологии, гинекологии, урологии, хирургии, офтальмологии. Непосредственный контакт с противоопухолевыми препаратами имеют фармацевты, а также сотрудники, занятые в области изучения канцерогенеза и экспериментальной химиотерапии. Несмотря на соблюдение рекомен-

двумя мерами безопасности, избежать загрязнения производственной среды этими препаратами в помещениях медицинских учреждений не удастся. Увеличение масштабов использования и расширение спектра противоопухолевых препаратов и их комбинаций приводят к повышению онкологического риска у медперсонала, что показано в ряде зарубежных исследований [2–4] и в единичных исследованиях в России [5, 6]. Следует учесть и другой негативный эффект противоопухолевых препаратов – их влияние на репродуктивную функцию. Показано повышение риска врожденных пороков развития у ребенка в 3.3 раза при профессиональной экспозиции матери к цитостатикам до зачатия [7]. В исследовании [8] продемонстрировано статистически значимое повышение риска спонтанных аборт.

Поиск методов ранней диагностики цитогенетических нарушений, которые считаются предикторами канцерогенеза, является актуальной задачей генотоксикологии. И такая диагностика имеет первостепенное значение при обследовании человека. Для оценки канцерогенной опасности при воздействии генотоксических агентов на человека используются методы, основанные на выявлении хромосомных aberrаций, микроядер и поврежденный ДНК в лимфоцитах периферической крови. Однако эти методы требуют забора крови из вены (т.е. являются инвазивными), а также культивирования лимфоцитов с использованием дорогостоящих реактивов. Кроме того, многие химические соединения, воздействующие на человека, обладают цитостатическим или цитотоксическим действием, что затрудняет процесс культивирования. В качестве альтернативы для оценки хромосомных повреждений все чаще применяют неинвазивный (без взятия крови), не требующий культивирования микроядерный метод на эпителиальных клетках слизистой оболочки щеки. Эпителий представляет особый интерес, поскольку является первым барьером на пути воздействия факторов, поступающих с водой, пищей и воздухом, а его активная пролиферация обеспечивается интенсивным кровоснабжением. При этом переносимые кровью генотоксические соединения или их метаболиты также воздействуют на эпителиоциты.

К настоящему времени микроядерный тест на буккальном эпителии усовершенствован нами и дополнен анализом широкого спектра состояния ядра эксфолиативных клеток по цитогенетическим показателям, показателям пролиферации и апоптоза [9, 10]. Параллельно этот расширенный вариант метода был принят международным сообществом. Для гармонизации исследований с использованием микроядерного теста в 2007 г. запущен проект HUMNxL. В настоящее время этот подход является общепринятым и получил название “буккальный микроядерный цитомный тест” (БМЦТ) [11]. Мы впервые включили в оценку

БМЦТ интегральные показатели цитогенетических нарушений, пролиферации и апоптоза, определение уровня цитогенетического стресса в зависимости от превышения ориентировочных нормативных величин и комплексного индекса накопления цитогенетических нарушений, который объединяет весь спектр показателей структуры ядра клеток [12–14].

В связи с этим целью настоящего исследования была оценка цитогенетического статуса медицинского персонала в условиях профессиональной экспозиции разной длительности к противоопухолевым препаратам с использованием нового перспективного метода – буккального микроядерного цитомного теста (БМЦТ) в расширенном варианте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с Руководством ВОЗ [15] согласно опубликованным нами методическим рекомендациям [13].

Исследовали мазки буккального эпителия сотрудников ФГБУ “НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина” Минздрава России, имеющих регулярный контакт с противоопухолевыми препаратами. В исследовании участвовали врачи и медицинские сестры, всего 54 сотрудника (49 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 19 до 63 лет. Применяли сравнение группы воздействия с отрицательным и положительным контролем, а также подход сопряженных выборок, который подразумевает анализ изменений показателя у одной и той же группы лиц до и после воздействия какого-либо фактора (табл. 1). У каждого обследуемого из группы медперсонала биологический материал брали в трех временных точках: при минимальной экспозиции – в первый рабочий день после отпуска (группа 2), через месяц активной работы после отпуска (группа 3) и точке максимальной экспозиции противоопухолевыми препаратами – за день до отпуска (группа 4). Отпуск работников, участвующих в исследовании, составлял 14–28 календарных дней. В группу сравнения (группа 1, далее – отрицательный контроль) вошли сотрудники московского офиса, 47 женщин в возрасте до 25–40 лет, не имеющие контакта с генотоксическими соединениями, условно здоровые на момент обследования. Также проведена оценка цитогенетического статуса девяти онкологических больных (женщин в возрасте от 40 до 64 лет, страдающих раком молочной железы, раком яичников или раком тела матки) до и через неделю после лечения цитостатиками (циклофосфамидом и цисплатином), соответственно 5 и 6 группа. Эти группы служили положительным контролем. От каждого обследуемого получено информированное согласие на проведение данного неинвазивного обследования и заполнена соответствующая анкета.

Микроскопические препараты клеток слизистой оболочки щеки готовили в соответствии с [13]: стерильным деревянным шпателем делали соскоб с двух сторон с внутренней стороны щеки, наносили на предметные стекла, высушивали. Препараты фиксировали этанолом–уксусной кислотой (3 : 1), ДНК окрашивали ацетоорсеином, цитоплазму – светлым зеленым. Микроскопический анализ проводили на зашифрованных препаратах, считали по 1000 клеток от каждого индивида при увеличении $\times 1000$, оценивали показатели цитогенетического и цитотоксического действия. Биологическое значение, классификация и критерии определения этих показателей описаны ранее [9]. Каждую из анализируемых клеток относили к следующим категориям: клетки в норме; клетки с цитогенетическими нарушениями (микроядрами, протрузиями, ядрами атипичной формы); клетки с двумя ядрами (изолированными, сдвоенными), которые являются показателями нарушения пролиферации; клетки на ранней стадии деструкции ядра (с перинуклеарной вакуолью, с повреждением ядерной мембраны, конденсацией хроматина, ранним кариолизисом) и на поздней стадии деструкции ядра (с кариорексисом, пикнозом, полным кариолизисом), которые являются показателями физиологической гибели клеток. Также определяли интегральный показатель цитогенетических нарушений (Icyt) – сумму клеток с микроядрами и протрузиями, интегральный показатель пролиферации – сумму клеток с двумя ядрами и сдвоенными ядрами (Ipr) и апоптотический индекс, включающий клетки на ранней и поздней стадии деструкции ядра (Iarop), за исключением клеток с перинуклеарной вакуолью и повреждением ядерной мембраны. Комплексную оценку цитогенетического статуса проводили по двум показателям: уровню цитогенетического стресса и индексу накопления цитогенетических повреждений. Уровень цитогенетического стресса определяли для каждого индивида в баллах в зависимости от превышения ориентировочных нормативных величин (ОНВ) [13]. При отсутствии превышения ОНВ показатель равен 1 (низкий уровень), при превышении какого-либо или нескольких показателей пролиферации или деструкции ядра клеток этот показатель равен 2 (допустимый уровень), если же выявлено превышение по цитогенетическим показателям (наиболее опасное) – показатель равен 3 (высокий уровень). В соответствии со среднегрупповыми значениями можно выделить следующие уровни цитогенетического стресса: 1 – низкий уровень (у всех в группе нет превышения ОНВ); ≤ 2 – допустимый уровень (у части обследуемых в группе есть превышение ОНВ); > 2 – высокий (у большинства обследуемых в группе есть превышение ОНВ, преимущественно по цитогенетическим показателям). Индекс накопления цитогенетических повреждений, предложенный ранее [12] (In-

dex of accumulation of cytogenetic damages, Iac), рассчитывали по формуле $Iac = (Icyt \times Ipr/Iarop) \times 100$, где в числителе – интегральный показатель цитогенетических нарушений (Icyt) и интегральный показатель пролиферации (Ipr), а в знаменателе – апоптотический индекс (Iarop). Этот показатель позволяет охарактеризовать цитогенетический статус человека и в отличие от показателя “частота клеток с микроядрами” учитывает соотношение между частотой цитогенетических нарушений и “интенсивностью” клеточной кинетики. Определение индекса накопления цитогенетических повреждений позволяет выделить три группы риска – низкий ($Iac \leq 2$), умеренный ($2 < Iac < 4$) и высокий ($Iac \geq 4$).

Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 10.0 for Windows. Сравнение данных по группам проводили с помощью критерия Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение цитогенетического статуса медперсонала в группах с разной экспозицией противоопухолевых препаратов

Средние значения частоты клеток с микроядрами составили 0.64, 0.71 и 0.9% в группах 2–4. В соответствии с международным проектом HUMNxL фоновая частота буккальных клеток с микроядрами равна 1.1% [11], т.е. частота этого показателя у медперсонала не превышает фоновый уровень. Клетки с ядерными протрузиями составили 0.76, 0.73 и 1.12%; Icyt – 1.41, 1.45 и 2.02% (табл. 1). Очевидно, что средние значения увеличиваются с возрастанием нагрузки, однако различия между группами статистически незначимы.

Средние значения Ipr составили 7.0, 7.31 и 7.78% соответственно в группе после отпуска, через месяц после отпуска и перед отпуском. Они не различались статистически значимо и не превышали ОНВ.

Определены близкие значения показателей ранних и поздних стадий деструкции ядра клеток на трех сроках воздействия, которые в небольшой степени увеличивались к последнему сроку, однако отличия не были статистически значимы. В среднем эти значения не превышали ОНВ, кроме апоптоза (в очень малой степени). Апоптотический индекс оказался повышен на 7% (статистически незначимо) при наибольшей длительности экспозиции.

Уровень цитогенетического стресса был многократно повышен при максимальной длительности экспозиции и соответствовал во 2–4 группах 1.70, 1.55 и 1.86 ($p < 0.05$). Он определен как допустимый (не низкий). Наиболее выраженные изменения отмечены по индексу накопления цитогене-

Таблица 1. Показатели БМЦТ в группах медицинских работников, контактирующих с противопухолевыми препаратами, и контрольных, хер. ± m (95% ДИ)

Показатели	Группа 1 – негативный контроль, 47 человек	Группа 2 – медперсонал после отпуска, 54 человека	Группа 3 – медперсонал через месяц после отпуска, 49 человек	Группа 4 – медперсонал перед отпуском	Группа 5 – положительный контроль, онкобольные до лечения, 9 человек	Группа 6 – положительный контроль, онкобольные после лечения, 8 человек
Интегральный показатель цитогенетических нарушений, ‰ (Icut)[0–5]	0.53 ± 0.14 (0.25–0.82)	1.41 ± 0.19 (1.02–1.80)	1.45 ± 0.19 (1.06–1.83)	2.02 ± 0.28 (1.46–2.58)	5.78 ± 1.89* (1.41–10.14)	16.4 ± 5.69* (2.93–29.8)
Интегральный показатель пролиферации (Ipr), ‰ [0–8]	1.95 ± 0.25 (1.45–2.46)	7.0 ± 0.53 (5.93–8.07)	7.31 ± 0.67 (5.96–8.65)	7.78 ± 0.66 (6.45–9.10)	11.9 ± 3.33 (4.23–19.6)	67.6 ± 33.1* (–10.7–146.0)
Апоптотический индекс (Iapop), ‰ [0–600]	167.1 ± 11.0 (145.0–189.3)	373.3 ± 12.7 (347.9–398.7)	375.7 ± 11.8 (352.0–11.8)	402.4 ± 12.7 (376.9–427.8)	369.9 ± 55.9 (240.9–498.9)	293.6 ± 31.87* (218.3–369.0)
Индекс накопления цитогенетических нарушений (Iac)	1.90 ± 0.31 (1.28–2.53)	3.48 ± 0.47 (2.55–4.43)	3.90 ± 0.83 (2.34–5.56)	5.10 ± 0.95 (3.18–7.02)	28.6 ± 13.8* (–3.19–60.3)	1101 ± 821.4* (–841.1–3043)
Уровень цитогенетического стресса в баллах	1.13 ± 0.05 (1.03–1.23)	1.70 ± 0.07 (1.57–1.84)	1.55 ± 0.10* (1.36–1.75)	1.86 ± 0.08 (1.70–2.02)	2.33 ± 0.24* (1.79–2.88)	2.75 ± 0.16* (2.36–3.14)

Примечание. Все исследованные показатели в группе отрицательного контроля статистически значимо отличаются от соответствующих показателей в других группах по U-критерию Манна–Уитни при $p < 0.05$. При сравнении с группой 4 * $p < 0.05$.

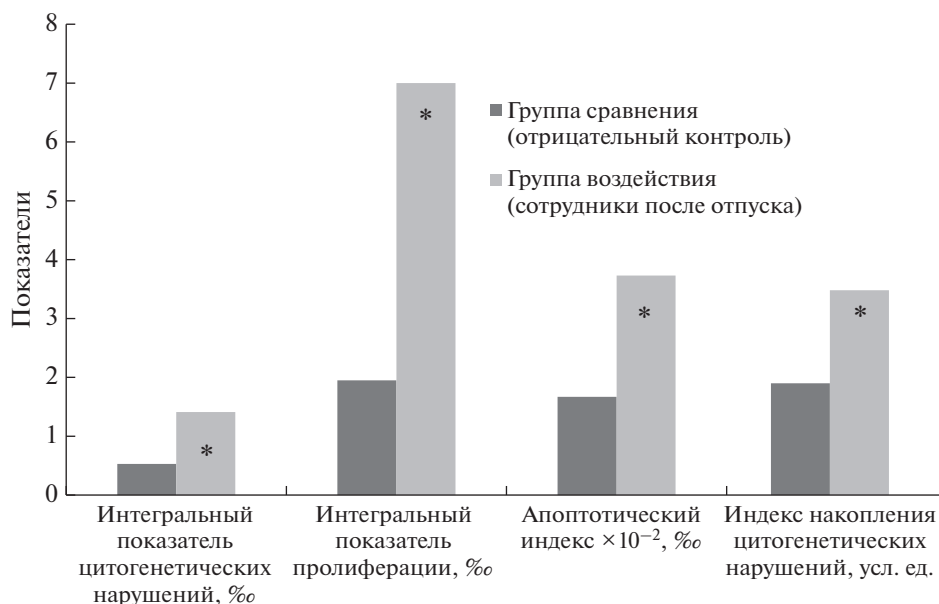


Рис. 1. Средние значения интегральных показателей цитогенетического статуса. Звездочка – $p < 0.05$.

тических нарушений, который составил 3.48, 3.90 и 5.10. Превышение эффекта на последнем сроке воздействия составило 46%. Причем учитывая этот показатель медперсонал, обследованный сразу и через месяц после отпуска, можно охарактеризовать как группу умеренного риска воздействия на цитогенетический статус, тогда как эта же группа, обследованная до отпуска, является группой высокого уровня риска [13].

Сравнение цитогенетического статуса медперсонала и группы отрицательного контроля

Средние значения всего спектра показателей цитогенетического статуса группы 1 (отрицательный контроль) статистически значимо отличаются от соответствующих показателей во всех других группах по U -критерию Манна–Уитни при $p < 0.05$. Средние значения частоты клеток с микроядрами в этой группе составили 0.3‰, с ядерными протрузиями – 0.23‰, I_{cyt} – 0.53‰. Средние значения этих показателей в группах 2–4 медперсонала существенно выше ($p < 0.05$).

I_{rg} соответствовал 1.95‰ в контроле и 7.0, 7.31 и 7.78‰ в группах 2–4 ($p < 0.05$), при этом превышения ОНВ не отмечено. Уровень показателей деструкции ядра клеток в группе 1 был в 2–3 раза ниже, чем в группе 2 медперсонала в сравнении с группой отрицательного контроля (минимальный уровень экспозиции). Это относится и к апоптотическому индексу в целом, что характеризует более быструю элиминацию клеток с цитогенетическими нарушениями в группе медперсонала ($p < 0.001$).

И в контроле, и в группе 2 отмечен низкий уровень цитогенетического стресса (1.13 и 1.70), но доля людей, у которых отмечено повышение частоты показателей цитотоксического действия, среди медперсонала все-таки больше, чем в контроле (рис. 1).

I_{ac} составил 1.9 в группе 1, а у медперсонала с увеличением экспозиции повышался с 3.48 до 3.90 (допустимый уровень риска) и 5.1 (высокий уровень риска) ($p < 0.01$).

Сравнение цитогенетического статуса онкобольных до и после приема противоопухолевых препаратов

В качестве положительного контроля определили цитогенетический статус девяти онкобольных до и через неделю после проведения курса лечения цитостатиками. Средние значения частоты клеток с микроядрами у онкобольных до и после лечения составили 5.22 и 9.37‰ ($p > 0.05$), с протрузиями – 0.56 и 7.0‰ ($p < 0.05$), I_{cyt} – 5.78 и 16.4‰ ($p < 0.05$) соответственно. Очевидно, что средние значения значительно увеличиваются после лечения пациентов цитостатиками, и это закономерно, так как оба препарата, которые они получали (циклофосфамид и цисплатин), характеризуются сильным мутагенным действием.

Частота клеток с двумя ядрами составила 8.0 и 16.6‰ (выше ОНВ), отмечены клетки с тремя, четырьмя, пятью ядрами или даже группы из 7–8 мелких приблизительно одинаковых по размеру ядер. Частота клеток со сдвоенными ядрами была еще более высокой – 3.9 и 51‰. В некоторых

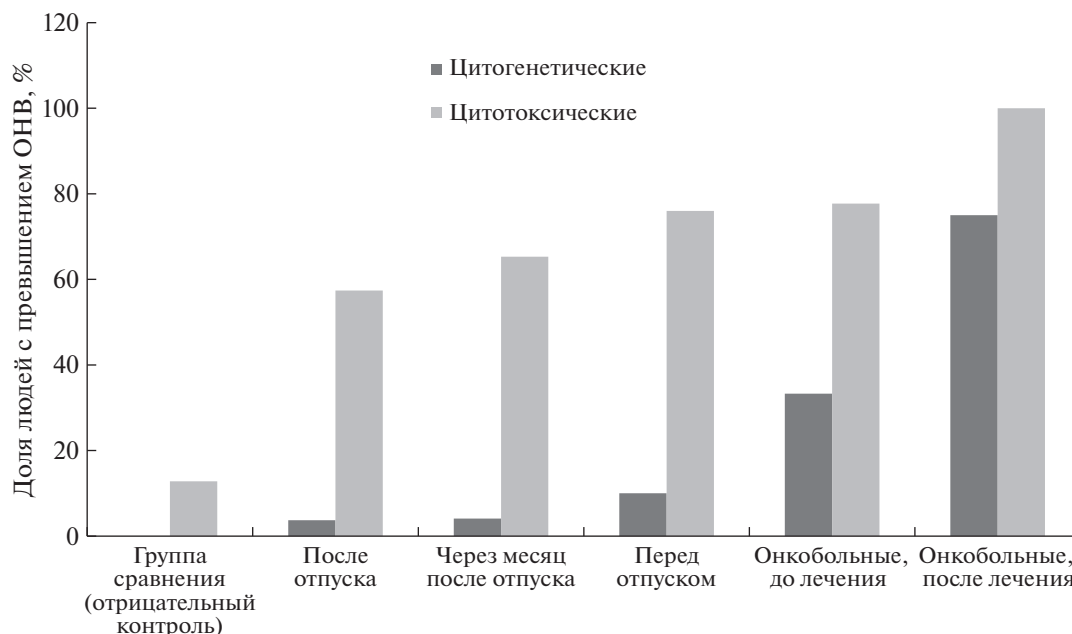


Рис. 2. Доля людей с превышением ОНВ по цитогенетическим и цитотоксическим показателям.

клетках отмечено по несколько ядерных аномалий – отдельно и сдвоенно лежащие ядра, протрузии и микроядра. Такие картины характерны для процессов значительных нарушений деления ядра, повреждения веретена деления и ДНК. Irg у больных до лечения был 11.9, после лечения – 67.6, что значительно превышает ОНВ. Этот феномен характерен для препаратов, характеризующихся цитостатическим действием.

Отмечено снижение почти всех показателей апоптоза у больных после лечения: частоты клеток с конденсацией хроматина (с 207.3 до 184.2%), началом кариолизиса (с 53.3 до 15.0%), с апоптотическими телами (с 16.3 до 5.5%), пикнозом (с 94.7 до 74.0%), Iaror в целом (с 369.9 до 293.6%). Уровень цитогенетического стресса – высокий и составляет 2.33 и 2.75 у больных до и после лечения ($p > 0.05$). Iас у онкобольных после лечения составил 1101, что в 40 раз превышает значение Iас у этих же пациентов до терапии (28.6, $p = 0.075$). В целом отмечено значительное ухудшение цитогенетического статуса онкобольных через неделю после лечения.

Сравнение цитогенетического статуса медперсонала и групп положительного контроля

Сравнивали группу 4 (медперсонал с наиболее длительной экспозицией) с группами 5 и 6 (онкобольные до и после лечения). Средние значения частоты клеток с микроядрами в группе медперсонала и онкобольных составили 0.90, 5.22, 9.37% ($p < 0.05$), частоты клеток с ядерными протрузиями – 1.12, 0.56 и 7.0%; Icut – 2.02, 5.78 и

16.4% соответственно (табл. 1). Очевидно, что показатели в группах онкобольных существенно выше, особенно в группе больных после лечения ($p < 0.001$). Irg составил 7.8, 11.89 и 67.6% соответственно. В группах онкобольных он существенно превышал ОНВ. Уровень показателей деструкции ядра клеток, в том числе апоптотический индекс, в группе медперсонала был выше.

Уровень цитогенетического стресса составил 1.86, 2.33 и 2.75, т.е. доля людей, у которых отмечено превышение частоты показателей цитотоксического действия, в группе онкобольных больше. Iас в группе онкобольных в 5.6 и 220 раз выше, чем у медперсонала.

Результаты сравнения групп по доле лиц с превышением ОНВ по цитогенетическим и цитотоксическим показателям приведены на рис. 2. Отмечено увеличение доли лиц с превышением ОНВ по цитогенетическим и цитотоксическим показателям в ряду групп 1–6.

ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с целью данного исследования необходимо было наиболее полно охарактеризовать цитогенетический статус медперсонала, имеющего контакт с противоопухолевыми препаратами. Для этого мы применили три подхода: сравнили группы, имеющие и не имеющие контакт с этими препаратами; определили цитогенетический статус медперсонала одной и той же группы при разной длительности экспозиции; определили цитогенетический статус пациентов этого же отделения до

и через неделю после приема противоопухолевых препаратов и провели сравнение с показателями медперсонала.

Средние значения показателей цитогенетического стресса, нарушения пролиферации и апоптоза в 1–4 группах в целом входят в диапазон, определенный для ряда обследованных нами и другими исследовательскими группами популяций [14–16]. Однако в группе медперсонала даже при минимальной длительности экспозиции определены более высокие уровни показателей ($p < 0.05$) по сравнению с таковыми у офисных работников.

При анализе длительности экспозиции уровень цитогенетического стресса был статистически значимо повышен в группе с максимальной длительностью воздействия. Доля людей с высоким риском цитогенетических нарушений при обследовании до отпуска (максимальная длительность экспозиции) составила 38%, что оказалось в 1.6 раза выше по сравнению с группами после отпуска (рис. 3). Следует учесть, что буккальный эпителий обновляется за 7–10 дней, т.е. после отпуска у медперсонала были собраны клетки, преимущественно не подвергавшиеся воздействию негативных производственных факторов. В условиях работы с противоопухолевыми препаратами такое воздействие возможно, несмотря на соблюдение рекомендуемых мер безопасности. По данным литературы в медицинских учреждениях противоопухолевые препараты определяются в воздухе и на поверхностях помещений [17, 18]. Метаанализ показал наличие во внутрибольничных помещениях остаточных количеств хотя бы одного лекарственного средства [19]. Следовые количества препаратов выявлены в местах приготовления растворов, на посуде и упаковках [20]. Причем и вторичная упаковка флаконов не предотвращает контаминацию [21]. Изучение стабильности некоторых препаратов (метотрексат, циклофосфамид, 5-фторурацил, паклитаксел) показало, что даже через 6 сут после поступления во внешнюю среду они сохраняют активность [22]. Следовые количества противоопухолевых препаратов обнаружены в анализах мочи медперсонала [20]. Но поскольку действующие концентрации препаратов чрезвычайно малы, выявить генотоксический эффект у медперсонала довольно сложно, что и показало наше исследование.

Метаанализ исследований по изучению цитогенетического статуса медперсонала, имеющего контакт с противоопухолевыми препаратами, представленный в публикации [23], показал значимое повышение уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови по сравнению с контролем. Такое же заключение следует из публикации [24], в которой представлен метаанализ по оценке цитогенетического статуса медперсонала с использованием микроядерного теста на лимфоци-

тах периферической крови. Повышенная частота лимфоцитов с микроядрами выявлена в 15 исследованиях из 24 (1988–2015 гг.). В 16 исследованиях были дополнительно определены другие показатели цитогенетического действия препаратов – хромосомные aberrации, сестринские хроматидные обмены, ДНК-кометы, микроядра в буккальных эпителиоцитах. Отмечено хорошее соответствие результатов генотоксических тестов. Наши данные совпадают с исследованиями, проведенными в Италии [25–27]. Частота буккальных эпителиоцитов с микроядрами у обследованных медсестер в онкологической клинике составила 0.89 и 0.94‰ (дневные медсестры и сестры отделения), что значимо отличалось от контроля (0.46‰). Также повышение частоты буккальных эпителиоцитов с микроядрами выявлено в работах [28–31], однако этот показатель был высоким даже в контроле (1.6, 2.7, 3.4‰). Это может быть связано с окраской препаратов по методу Гимза, при которой трудно различить микроядра и бактериальные клетки, практически всегда присутствующие в ротовой полости. В исследовании [32] эффект противоопухолевых препаратов не был выявлен: в группе экспонированных медсестер частота клеток с микроядрами составила 0.89‰ (в нашем исследовании 0.9‰), в контроле – 0.84‰. При этом группа контроля была представлена сотрудниками больниц, которые могли контактировать с другими генотоксическими соединениями. Учитывая указанные особенности проведения исследований, можно отметить, что наши данные хорошо согласуются с результатами других исследовательских групп. В то же время примененный нами подход имеет определенные преимущества. Анализ микроядер по сравнению с хромосомными aberrациями позволяет выявлять цитогенетическое действие не только кластогенов, но и анеугенов. Анализ буккального эпителия имеет широкие перспективы в связи с неинвазивным взятием материала, отсутствием необходимости культивировать клетки, возможностью анализировать широкий спектр состояний ядра клеток, в том числе нарушение пролиферации и апоптоз. Такой углубленный цитогенетический анализ мы применили впервые, подтвердив и расширив представления о влиянии условий работы с противоопухолевыми препаратами на цитогенетический статус медперсонала.

Чрезвычайно высокий Iac отмечен в группе положительного контроля. При этом доля больных с высоким риском накопления цитогенетических нарушений составила 56 и 87% соответственно. Повышенный уровень цитогенетических нарушений в буккальном эпителии онкобольных отмечен в ряде публикаций [33], но в настоящем исследовании мы представили картину более полно с определением в соответствии с нашим подходом интегральных показателей. Анализ этой группы до и после лечения показывает, что цитогенетический



Рис. 3. Доля людей с низким, умеренным (самый светлый цвет) и высоким (самый темный цвет) риском цитогенетических нарушений в обследованных группах в соответствии с индексом накопления цитогенетических нарушений.

статус онкобольных значительно нарушен, эти нарушения определяются не только в опухолях, но и других тканях организма. По-видимому, у таких больных в организме присутствуют как экзогенные генотоксиканты (различные лекарственные препараты), так и эндогенные генотоксические метаболиты.

В процессе эволюции в клетках эукариот сформирована иерархия защитных систем, включающая преграды на пути поступления токсикантов, их детоксикации, репарации повреждений ДНК и других высокомолекулярных соединений. Причем каждый организм имеет свои особенности, связанные с полиморфизмом генов. Тем не менее отмечаемое в мире повышение частоты онкопатологии, по-видимому, зависит от срыва адаптационных механизмов и нарушения стабильности клеточного генома. БМЦТ, позволяющий проводить такой мониторинг неинвазивно, имеет хорошие перспективы для определения групп риска по уровню цитогенетических нарушений и прогноза

канцерогенного действия, а главное для выявления людей с высоким индексом накопления цитогенетических нарушений.

Исследование состояния здоровья медперсонала, контактирующего с противоопухолевыми препаратами, проведено путем определения ранних предикторов неблагоприятных изменений, а именно – показателей цитогенетического статуса с использованием БМЦТ. Это особенно актуально, поскольку основными препаратами, с которыми работают сотрудники химиотерапевтических отделений, являются препараты, обладающие генотоксичностью, цитостатическим и канцерогенным действием. Группу медперсонала можно охарактеризовать как группу с допустимым уровнем цитогенетического стресса и с высоким уровнем риска по индексу накопления цитогенетических нарушений, что значимо отличает ее от группы отрицательного контроля. Это же подтверждает определение доли лиц с превышением ОНВ (77% по сравнению с 13% в контрольной группе), а также

определение доли лиц с высоким индексом накопления цитогенетических нарушений (38% против 11%). Результаты показывают, что медицинский персонал подвергается воздействию канцерогенных факторов в производственной среде и нуждается в дополнительных мерах безопасности, снижающих риск неблагоприятного воздействия противоопухолевых препаратов. При этом БМЦТ может рутинно использоваться для цитогенетического мониторинга медперсонала для выявления индивидов с повышенным уровнем накопления цитогенетических повреждений.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International Agency for Research of Cancer [WWW Document]. List of Classifications. 2020. URL: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications> (Accessed 01.12.2021).
2. Skov T., Lyng E., Maarup B. et al. Risks for physicians handling antineoplastic drugs // *Lancet*. 1990. V. 336. № 8728. P. 1446. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)93148-i](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)93148-i)
3. Gunnarsdottir H.K., Aspelund T., Karlsson T., Rafnsson V. Occupational risk factors for breast cancer among nurses // *Int. J. Occup. Environ. Health*. 1997. V. 3. P. 254–258. <https://doi.org/10.1179/oe.1997.3.4.254>
4. Ratner P.A., Spinelli J.J., Beking K. et al. Cancer incidence and adverse pregnancy outcome in registered nurses potentially exposed to antineoplastic drugs // *BMC Nurs*. 2010. V. 9. P. 15–25. <https://doi.org/10.1186/1472-6955-9-15>
5. Соленова Л.Г. Производственные факторы и онкологический риск у онкологов // *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2009. Т. 20. № 2. С. 41–47.
6. Соленова Л.Г. Эпидемиологический мониторинг онкологического риска у работников онкологического центра // *Успехи мол. онкологии*. 2019. Т. 6. С. 63–70. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2019-6-3-63-70>
7. Тихонова Г.И., Рубцова Н.Б., Яковлева Т.П. Условия труда родителей как фактор риска развития врожденных пороков у детей // *Безопасность жизнедеятельности*. 2006. Т. 2. С. 52–57.
8. Dranitsaris G., Johnston M., Poirier S. et al. Are health care providers who work with cancer drugs at an increased risk for toxic events? A systematic review and meta-analysis of the literature // *J. Oncol. Pharm. Pract*. 2005. V. 11. № 2. P. 69–78. <https://doi.org/10.1191/1078155205jp155oa>
9. Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека // *Мед. генетика*. 2007. Т. 6. № 11. С. 3–11.
10. Сычева Л.П. Цитогенетический мониторинг для оценки влияния факторов внешней среды на здоровье человека. Здоровье здорового человека: научные основы организации здравоохранения, восстановительной и экологической медицины. Руководство. Изд. 3-е, перераб. М.: АНО “Международный университет восстановительной медицины”, 2016. С. 221–225.
11. Fenech M., Holland N., Zeiger E. et al. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells—past, present and future // *Mutagenesis*. 2011. V. 26. № 1. P. 239–245. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq051>
12. Сычева Л.П. Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека // *Гигиена и санитария*. 2012. Т. 91. № 6. С. 68–72.
13. Методические рекомендации “Оценка состояния здоровья персонала предприятий, осуществляющих деятельность по обращению с отработавшим ядерным топливом и радиоактивными отходами” // *МР ФМБА России* 12.031-2020. УТВ. 14.07.2020. 27 с.
14. Sycheva L.P., Kiselev S.M., Shandala N.K. Cytogenetic analysis (buccal micronucleus cytome assay) of radioactive waste management workers // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*. 2021. V. 870–871. P. 503403. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503403>
15. Guidelines for the study of genetic effects in human populations. International programme of chemical safety. Environmental health criteria 46. World Health Organization. Geneva. 1985.
16. Sycheva L.P., Umnova N.V., Kovalenko M.A. et al. Dioxins and cytogenetic status of villagers after 40 years of agent Orange application in Vietnam // *Chemosphere*. 2016. V. 144. P. 1415–1420. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.009>
17. Connor T.H., DeBord D.G., Pretty J.R. et al. Evaluation of antineoplastic drug exposure of health care workers at three university-based US cancer centers // *J. Occup. Environ. Med*. 2010. V. 52. P. 1019–1027. <https://doi.org/10.1097/JOM.0b013e3181f72b63>
18. Santos A.N., Oliveira R.J., Pessatto L.R. et al. Biomonitoring of pharmacists and nurses at occupational risk from handling antineoplastic agents // *Int. J. Pharm. Pract*. 2020. V. 28. P. 506–511. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12590>
19. Hon C.-Y., Barzan C., Astrakianakis G. Identification of knowledge gaps regarding healthcare workers’ exposure to antineoplastic drugs: Review of Literature, North America versus Europe // *Saf. Health Work*. 2014. V. 5. P. 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2014.06.001>
20. Hon C.-Y., Teschke K., Shen H. et al. Antineoplastic drug contamination in the urine of Canadian healthcare workers // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2015. V. 88. P. 933–941. <https://doi.org/10.1007/s00420-015-1026-1>
21. Cotteret C., Secretan P.-H., Gilles-Afchain L. et al. External contamination of antineoplastic drug vials: an occupational risk to consider // *Eur. J. Hosp. Pharm*. 2020. <https://doi.org/10.1136/ejpharm-2020-002440>

22. *Jeronimo M., Colombo M., Astrakianakis G., Hon C.-Y.* A surface wipe sampling and LC-MS/MS method for the simultaneous detection of six antineoplastic drugs commonly handled by healthcare workers // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407. P. 7083–7092. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8868-y>
23. *Roussel C., Witt K.L., Shaw P.B., Connor T.H.* Meta-analysis of chromosomal aberrations as a biomarker of exposure in healthcare workers occupationally exposed to antineoplastic drugs // *Mutat. Res.* 2019. V. 781. P. 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.08.002>
24. *Villarini M., Gianfredi V., Levorato S. et al.* Occupational exposure to cytostatic/antineoplastic drugs and cytogenetic damage measured using the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay: A systematic review of the literature and meta-analysis // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2015. V. 770. P. 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.05.001>
25. *Cavallo D., Ursini C.L., Perniconi B. et al.* Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees // *Mutat. Res.* 2005. V. 587. № 1–2. P. 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.07.008>
26. *Cavallo D., Ursini C.L., Omodeo-Salè E., Iavicoli S.* Micronucleus induction and FISH analysis in buccal cells and lymphocytes of nurses administering antineoplastic drugs // *Mutat. Res.* 2007. V. 628. № 1. P. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.10.014>
27. *Cavallo D., Ursini C.L., Rondinone B., Iavicoli S.* Evaluation of a suitable DNA damage biomarker for human biomonitoring of exposed workers // *Environ. Mol. Mutagen.* 2009. V. 50. P. 781–790. <https://doi.org/10.1002/em.20501>
28. *Machado-Santelli G.M., Cerqueira E.M., Oliveira C.T., Pereira C.A.* Biomonitoring of nurses handling antineoplastic drugs // *Mutat. Res.* 1994. V. 322. № 3. P. 203–208. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(94\)90007-8](https://doi.org/10.1016/0165-1218(94)90007-8)
29. *Burgaz S., Karahalil B., Bayrak P. et al.* Urinary cyclophosphamide excretion and micronuclei frequencies in peripheral lymphocytes and in exfoliated buccal epithelial cells of nurses handling antineoplastics // *Mutat. Res.* 1999. V. 439. № 1. P. 97–104. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00180-6](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00180-6)
30. *Rekhadevi P.V., Sailaja N., Chandrasekhar M. et al.* Genotoxicity assessment in oncology nurses handling anti-neoplastic drugs // *Mutagenesis.* 2007. V. 22. № 6. P. 395–401. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem032>
31. *El-Ebiary A.A., Abuelfadl A.A., Sarhan N.I.* Evaluation of genotoxicity induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes of oncology nurses and pharmacists // *J. Appl. Toxicol.* 2013. V. 33. № 3. P. 196–201. <https://doi.org/10.1002/jat.1735>
32. *Bolognesi C., Nucci M.C., Colacci A.M. et al.* Biomonitoring of nurses occupationally exposed to antineoplastic drugs: the IMEPA Project // *Epidemiol Prev.* 2005. V. 29. P. 91–95.
33. *Byakhova M.M., Byakhova V.M.* Cytogenetic changes in the buccal and nasal epithelium in patients with cancer of different localization // *Mutagenesis.* 2017. V. 32. № 6. C. 607–628.

Application of Buccal Micronucleus Cytome Assay for the Evaluation of Cytogenetic Status of Healthcare Professionals Contacting with Anti-Cancer Drugs

**K. I. Kirsanov^{a, b}, L. P. Sycheva^{c, *}, E. A. Lesovaya^{a, d}, E. M. Zhidkova^a, O. A. Vlasova^a,
A. V. Osipova^{a, e}, E. S. Lylova^a, D. D. Grigorieva^a, E. M. Kulakova^a, L. G. Solenova^a,
G. A. Belitsky^a, I. N. Mikhaylova^a, and M. G. Yakubovskaya^a**

^a*Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, 115478 Russia*

^b*Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia*

^c*Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, 123182 Russia*

^d*Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, 390026 Russia*

^e*Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, 111123 Russia*

**e-mail: lpsycheva@mail.ru*

Healthcare professionals of chemotherapy departments contact with anti-cancer drugs with genotoxic properties. In presented paper for the first time we analyzed the cytogenetic status of healthcare workers (54 persons) using the novel prospective non-invasive approach, (buccal micronucleus cytome assay) with the evaluation of integral indexes. The effect was evaluated after different exposure time: (1) after vacation; (2) one month after vacation; (3) before vacation. We revealed the statistically significant increases in analyzed biomarkers of cytogenetic damages, impaired proliferation and apoptosis in comparison with the control group of office staff (47 persons). We demonstrated the increase of the level of cytogenetic damages from 24 to 38% among the healthcare personnel with the maximal exposure time (compared to 11% in control group). In cancer patient (9 persons) the percentage of people with high level of cytogenetic damages was 56% before chemotherapy and 87% after the treatment.

Keywords: buccal micronucleus cytome assay, anti-cancer drugs, cytogenetic damages, healthcare professionals of chemotherapy departments, cancer patients.