

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ У РАБОЧИХ НЕФТЯНЫХ
ПРОМЫСЛОВ СИБИРИ**

Е.Н. Ильинских, Е.В. Замятина

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Н.Н. Ильинских

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

Е-mail: nauka-tomsk@yandex.ru

**CYTOGENETIC EFFECTS OF TICK-BORNE INFECTIONS IN WORKERS OF OIL FIELDS IN
SIBERIA**

E.N. Ilyinskikh, E.V. Zamyatina

Scientific Supervisor: Prof., Dr. N.N. Ilyinskikh

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

Е-mail: nauka-tomsk@yandex.ru

Abstract. *This work consisted in monitoring of the cytogenetic effects in groups of oilfield workers infected with tick-borne infections: a group of patients with the coinfection of tick-borne encephalitis (TBE) and tick-borne ixodine borreliosis (TBB) in comparison with two groups of patients with mono-infection of one of these diseases. A total of 46 patients were examined including 12 ones with coinfection, 10 ones with TBB, and 24 individuals with TBE. Their peripheral blood samples for the chromosomal assay were obtained from the patients soon after being admitted to the hospital. In addition, the blood samples were repeatedly obtained from the same patients in 30, 60 and 180 days after being discharged from the hospital. The blood samples of healthy donors were used as the controls. It was found that in 2 day after being admitted to the hospital the frequency of cytogenetically damaged cells was significantly higher both in the coinfecting (CI) and mono-infected patients than in the controls ($p < 0.01$). There were significant increases in the frequencies of both aneuploid and polyploid cells as well as in the lymphocytes with structural chromosomal aberrations, predominantly chromatid breaks. Most of the aneuploid cells belonged to the hypoploid type. The highest frequency of the aberrations was found in chromosome 2. In case of the full recovery (without chronicity), both the CI and TBE groups showed that the frequency of the cytogenetically damaged cells become statistically indistinguishable from the controls only in 6 months after the clinical recovery. In the patients with TBB, it occurs in a month after the clinical recovery.*

Введение. В ранее проведенных нами исследованиях [1, 2] впервые в нашей стране было установлено, что вирулентный штамм вируса клещевого энцефалита способен индуцировать существенное увеличение числа анеуплоидных клеток и клеток с хромосомными aberrациями. Имеющиеся на сегодняшний день сведения о цитогенетических последствиях клещевых инфекций не позволяют ответить на основной вопрос, который возникает в процессе лечения и реабилитации больного: как быстро и в какие сроки происходит восстановление цитогенетического гомеостаза организма у переболевшего человека.

Настоящая работа посвящена мониторингу цитогенетических последствий у рабочих нефтепромыслов переболевших микст инфекциями: клещевым энцефалитом и клещевым боррелиозом, по сравнению с моно инфекцией одним из этих заболеваний.

Материалы и методы исследования. Всего обследовано 57 больных – рабочих нефтепромыслов: 15 больных с коинфекцией, 14 с – иксодовым клещевым боррелиозом и 28 – с клещевым энцефалитом. Возраст больных был от 21 до 44 лет. Взятие образцов крови проводили из локтевой вены сразу же после госпитализации. Кроме того, через 30, 60 и 180 суток после выписки из больницы проводили повторное взятие крови у тех же лиц. У всех обследованных больных с помощью полимеразной цепной реакцией (ПЦР) подтверждено наличие нуклеиновых кислот принадлежащих инфекционным агентам в плазме крови пациента. Предварительно у каждого обследованного было взято информированное согласие на проведение цитогенетического исследования. В качестве интактного контроля изучены метафазные пластинки у 24 здоровых доноров станции переливания крови. Культивирование лейкоцитов крови, приготовление препаратов для анализа проводили стандартно общепринятым методом. У каждого больного изучали не менее 100 клеток. Все препараты предварительно зашифровывали. Для контроля использовали кровь здоровых доноров той же возрастной группы, что и больные. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета программ Statistica v. 6.0. Частоты наблюдаемых кариопатологий рассчитывали в программе “The EH Software Program, Rockefeller University, NY” (США). Различия сравниваемых результатов ($M \pm m$, где M – выборочное среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что у больных коинфекцией в начале болезни (1-2 день госпитализации) число клеток с цитогенетическими нарушениями было в 5,6 раза выше чем в группе здоровых доноров ($12,2 \pm 2,3\%$ и $2,18 \pm 0,49\%$ при $p < 0,01$), у больных клещевым энцефалитом в 3,9 раза выше, чем в интактном контроле (соответственно $8,46 \pm 1,82$ и $2,18 \pm 0,49\%$, при $p < 0,01$), а у больных иксодовым клещевым боррелиозом – в 1,8 раза ($3,92 \pm 0,22\%$, при $p < 0,05$). Во всех случаях показано существенное увеличение числа анеуплоидных и полиплоидных клеток, а также клеток со структурными нарушениями хромосом. Среди анеуплоидных клеток преобладали гипоплоидные. У больных клещевым энцефалитом и у больных с коинфекцией закономерно чаще отсутствовали хромосомы из группы D и G. Полиплоидные клетки были в основном тетраплоидными, в интактном контроле они встречались очень редко, а у больных с коинфекцией и у больных иксодовым клещевым боррелиозом – гораздо чаще. У больных клещевым энцефалитом и у больных с коинфекцией более половины из всех хромосомных aberrаций относились к хроматидным разрывам. Хромосомные разрывы наблюдались только у некоторых больных. У больных клещевым энцефалитом и у больных с коинфекцией наиболее часто aberrации обнаруживались в хромосоме 2. Дефицит числа нарушений наблюдали в хромосомах групп C, D и E, при этом в хромосомах групп F и G вообще не было отмечено структурных нарушений хромосом. Повышенное число разрывов обнаружено в теломерных районах длинных плеч хромосом групп A, B, C, D. Повторное обследование переболевших больных клещевым энцефалитом и больных с коинфекцией, проведенное через 1 месяц после выписки из больницы, не выявило значимого снижения числа клеток с цитогенетическими нарушениями. Через 3 месяца наблюдается процесс нормализации кариотипа переболевших. Через 6 месяцев частота клеток с цитогенетическими нарушениями нормализуется до

уровня контроля. У больных иксодовым клещевым боррелиозом нормализация кариотипа отмечена уже через 1 месяц после госпитализации. Известно, что вирусы способны индуцировать образование анеуплоидных и полиплоидных клеток [1]. У больных клещевым энцефалитом, в гипоплоидных клетках отсутствовали хромосомы группы D и G. Это ядрышкообразующие хромосомы и агенты, тормозящие распад ядрышка при делении клетки могут повлиять на процессы расхождения этих хромосом в митозе [2]. В лейкоцитах больных разрывы локализованы в основном в теломерных и околоцентромерных районах, которые, как известно, сформированы гетерохроматином. Полученные сведения соответствуют общепринятому представлению, что гетерохроматиновые районы наиболее чувствительны к действию большинства мутагенных факторов [1]. Такая однотипность наблюдаемых поражений хромосом, индуцированных различными инфекционными агентами, позволяет предположить наличие каких-то общих механизмов в их возникновении. В этом отношении наиболее апробирована гипотеза, связанная с деятельностью иммунной системы, одной из функций которой является устранение из организма генетически измененных клеток [3,4], в связи с чем, нормализацию числа цитогенетически измененных клеток в организме переболевшего человека следует ожидать при восстановлении способности иммунной системы поддерживать цитогенетический гомеостаз организма.

Заключение. Клещевые инфекции сопровождаются значимо повышенным уровнем цитогенетических нарушений на протяжении первых трех месяцев после клинического выздоровления. В отсутствие хронизации полная нормализация кариотипа у больных клещевым энцефалитом и у больных с коинфекцией клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза наблюдалась только через 6 месяцев после клинического выздоровления. У больных иксодовым клещевым боррелиозом это происходило через 1 месяц после госпитализации. Предполагают, что появление цитогенетических нарушений в иммунокомпетентных клетках связано с активным образованием свободных радикалов кислорода и оксида азота, повреждающих белки и ДНК. Поэтому элиминация таких дефектных клеток, чаще происходит путем апоптоза и с этим процессом тесно связано восстановление способности иммунной системы поддерживать цитогенетический гомеостаз организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского фонда гуманитарных исследований 15-06-10190 и Российского фонда фундаментальных исследований № 16-44-700149.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильинских Н.Н., Ксенц А.С., Ильинских Е.Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности. – Томск: Изд-во Томского педагогического университета, 2011. – 312 с.
2. Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н. Влияние вируса клещевого энцефалита на хромосомный аппарат клеток человека // Цитология и генетика. – 1976. – Т. 10. – № 4. – С. 331–333.
3. Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh I.N., Ilyinskikh E.N. Infectious mutagenesis (Cytogenetic effects in human and animal cells as well as immunoreactivity induced by viruses, bacteria and helminthes). – Saarbrücken (Germany): LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. – 218 p.
4. Sullivan K.E., Stiehm E.R. Stiehm's immune deficiencies. – Amsterdam: Academic Press (an imprint of Elsevier), 2014. – 456 p.