



Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Малышева А.Г., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К.,
Юрцева Н.А., Никитина Т.А., Иванова С.М., Шишкин Д.И., Бударина О.В.

Влияние состава загрязнения атмосферного воздуха на генотоксические эффекты в эпителиоцитах щеки детей

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

Введение. Публикация представляет третий фрагмент комплексного многопараметрового пилотного исследования, направленного на создание методологии оценки влияния запаха на адаптационный потенциал человека. Работу проводили в городе, где функционируют в основном предприятия пищевой промышленности и агропромышленного комплекса и отсутствуют предприятия I–II классов опасности. Выбросы в атмосферный воздух от действующих предприятий имеют специфический запах, вызывающий жалобы населения.

Материалы и методы. Эффекты нестабильности генома (ЭНГ) определены цитомным анализом в микроядерном тесте на слущивающихся эпителиоцитах щеки 112 детей 5–7 лет, посещающих дошкольные образовательные учреждения (ДОО), расположенные на расстоянии 1,7–5,9 км от предприятий — основных источников запаха. На площадках для прогулок ДОО отбирали пробы атмосферного воздуха для определения их химического состава.

Результаты. ЭНГ детей из разных ДОО не различались между собой ни по одному из 13 оценённых показателей, причём уровни эффектов не выходили за пределы средненормальных значений, представленных в литературе, и собственных данных.

В составе проб воздуха определено 78 веществ, принадлежащих к разным классам химических соединений. Выявлены высокоуровневые и статистически значимые прямые корреляционные связи между суммарным содержанием компонентов загрязнения воздуха с доказанной генотоксической активностью и частотами эпителиоцитов с микроядрами и с заглоченными апоптозными тельцами. Не выявлена связь между суммарным превышением ПДК для химических соединений, обнаруженных в воздухе, и ЭНГ у детей.

Ограничения исследования: корректное формирование групп для обследования, строгость критериев цитомного анализа и идентичность идентификации цитогенетических эффектов при проведении цитомного анализа разными исследователями.

Заключение. ЭНГ в эпителиоцитах щеки детей преимущественно связаны с присутствием в воздухе веществ с доказанной мутагенной, канцерогенной и анеугенной активностью, но не с превышением гигиенических нормативов содержания химических соединений в воздухе.

Ключевые слова: генотоксичные и негенотоксичные соединения в атмосферном воздухе; эпителиоциты слизистой оболочки щеки детей; микроядерный тест; цитомный анализ; нестабильность генома детей

Соблюдение этических стандартов. Обследование детей проведено с разрешения родителей, заполнивших бланк добровольного информированного согласия на обследование детей.

Для цитирования: Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Малышева А.Г., Ахальцева Л.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Никитина Т.А., Иванова С.М., Шишкин Д.И., Бударина О.В. Влияние состава загрязнения атмосферного воздуха на генотоксические эффекты в эпителиоцитах щеки детей. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(2): 201–210. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-201-210>

Для корреспонденции: Ингель Фаина Исааковна, вед. науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: FIngel@espmz.ru

Участие авторов: Юрченко В.В. — анализ литературы, взятие проб эпителиоцитов, приготовление препаратов для цитомного анализа, статистический анализ и описание результатов цитомного анализа; Ингель Ф.И. — концепция и дизайн исследования, поиск источников литературы, анализ и интерпретация данных литературы, статистическая обработка материала, написание текста; Малышева А.Г. — программа и выбор методов химико-аналитических исследований; Ахальцева Л.В. — цитомный анализ, редактирование рукописи и подготовка её к печати; Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Никитина Т.А., Иванова С.М. — цитомный анализ; Шишкин Д.И. — проведение химико-аналитических исследований; Бударина О.В. — организация исследования и расчёты рассеивания запаха в воздухе. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания «Анализ изменений адаптации населения, проживающего в районах размещения предприятий — источников запаха, с целью разработки рекомендаций для органов здравоохранения по управлению риском возникновения экологически обусловленных заболеваний» ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

Поступила: 28.07.2021 / Принята к печати: 25.11.2021 / Опубликована: 10.03.2022

Valentina V. Yurchenko, Faina I. Ingel, Alla G. Malysheva, Lyudmila V. Akhaltseva,
Elena K. Krivtsova, Nadezda A. Yurtseva, Tatiana A. Nikitina, Svetlana M. Ivanova,
Dmitry I. Shishkin, Olga V. Budarina

Influence of the composition of atmospheric air pollution on genotoxic effects in the buccal epithelial cells in children

Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency of Russian Federation, Moscow, 119121, Russian Federation

Introduction. This publication presents the third fragment of a comprehensive multi-parameter pilot study to create a methodology for assessing the open-air odor' impact on human's adaptive potential. The pilot study was carried out in the little town (50 thousands of inhabitants), mainly the food industry and agro-industrial complex work, but enterprises of 1–2 classes of danger are absent. Air emissions from operating enterprises have a specific odor that causes complaints of inhabitants.

Materials and methods. The effects of genome instability (EGI) in children attending kindergartens located at a distance of 1.7–5.9 km from enterprises — the primary sources of odor — were assessed. EGI was determined non-invasively using a micronucleus test on exfoliating cheek epithelial cells. The epitheliocytes from

112 children of 5–7 years old were examined simultaneously with a collection of atmospheric air samples from the walking areas of the kindergartens which the examined children attended. These atmospheric air samples were taken for gas chromatography-mass spectrometric determination of their chemical composition.

Results. Seventy-eight chemical compounds belonging to different classes of chemicals were identified in the air samples. The groups of children from different kindergartens did not differ statistically in any of the 13 assessed indicators of the cytome analysis of the buccal mucosa epithelium cells, and the levels of genotoxic and toxic effects did not go beyond the average expected values presented in literature and our studies for different groups of comparison. High-level and statistically significant direct correlations between the total content of air pollutants with proven genotoxic activity and the two main indicators of the micronucleus test on cheek epithelial cells: the frequencies of cells with micronuclei and cells with accepted apoptotic bodies were revealed. No correlation was found between summarized levels of the detected chemicals limited concentrations and the results of cytome analysis of children's buccal epithelial cells.

Limitations. Correct formation of groups for examination, the severity of the criteria for cytome analysis and identity of cytogenetic effects identification in the course of cytome analysis by different researchers.

Conclusion. The effects of genome instability in the buccal epithelial cells in children were shown to be mainly associated with the presence of substances with proven mutagenic, carcinogenic and neogenic activities, but not with the total excess of hygienic standards for the content of chemical compounds in the air.

Keywords: genotoxic and non-genotoxic chemical compounds in atmospheric air; epithelial cells of children's buccal mucosa; micronucleus test; cytome analysis; children's genome instability

Compliance with ethical standards. The children's examination was carried out with the permission of their parents, who signed the information agreement form for the children's examination.

For citation: Yurchenko V.V., Ingel F.I., Malysheva A.G., Akhaltseva L.V., Krivtsova E.K., Yurtseva N.A., Nikitina T.A., Ivanova S.M., Shishkin D.I., Budarina O.V. Influence of the composition of atmospheric air pollution on genotoxic effects in the buccal epithelial cells in children. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(2): 201-210. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-201-210> (In Russian)

For correspondence: Faina I. Ingel, MD, PhD, DSci., Leading Researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research in the Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: FIngel@cspmz.ru

Information about the authors:

Yurchenko V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4377-245X> Ingel F.I., <https://orcid.org/0000-0002-2262-6800> Malysheva A.G., <https://orcid.org/0000-0003-3112-0980> Akhaltseva L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858> Krivtsova E.K., <https://orcid.org/0000-0002-5039-8980> Yurtseva N.A., <https://orcid.org/0000-0001-5031-2916> Nikitina T.A., <https://orcid.org/0000-0003-0866-5990> Ivanova S.M., <https://orcid.org/0000-0001-5057-9514> Budarina O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4319-7192>

Contribution: Yurchenko V.V. – analysis of literature, children's epithelial cells sampling and preparing them for cytome analysis, statistical analysis and description of the results of cytome analysis. Ingel F.I. – concept and design of the study, analysis and interpretation of literature data, statistical analysis of the obtained data, text writing. Malysheva A.G. – program and the choice of methods of chemical studies. Akhaltseva L.V. – cytome analysis, manuscript editing and preparing for publication. Krivtsova E.K., Yurtseva N.A., Nikitina T.A., Ivanova S.M. – cytome analysis. Shishkin D.I. – chemical analysis of the air samples. Budarina O.V. – organization of the study, odor dispersion calculation. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The work was carried out within the framework of the state task "Analysis of changes in the adaptation of the population living in the areas where located enterprises are sources of odor, in order to develop recommendations for health authorities on managing the risk of environmentally caused diseases" by Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency of Russian Federation.

Received: July 28, 2021 / Accepted: November 25, 2021 / Published: March 10, 2022

Введение

Микроядра (МЯ) в эпителии слизистой оболочки щеки начали анализировать в начале 80-х годов XX века – примерно через 10 лет после международного признания микроядерного теста на полихроматофильных эритроцитах костного мозга лабораторных животных как удобного, быстрого, надёжного цитогенетического метода оценки мутагенной активности различных факторов, не уступающего по чувствительности и специфичности метафазному анализу на клетках костного мозга [1]. Весьма удачным оказался контингент обследуемых в первых работах – это были потребители табачных жвачек [2, 3], для которых к тому времени эпидемиологи уже выявили и оценили дополнительный риск развития рака. Оказалось, что частота микроядер в буккальных эпителиоцитах хорошо отражает этот риск развития рака [4]. К настоящему времени оценены цитогенетические эффекты многих факторов загрязнения окружающей среды, производственных факторов, особенностей стиля жизни, различных заболеваний, а также дефицита пищевых факторов [5, 6]. Насчитываются десятки работ с одновременным использованием микроядерных методов на эпителии слизистой оболочки щеки и лимфоцитах периферической крови в присутствии цитохалазина Б, что позволяет оценить конкордантность этих тестов. По оценке одних авторов, она доходит до 74% [7], других – до 59% [8].

Важным этапом в развитии микроядерного теста на эпителии щеки явилось введение в протокол анализа не только частоты клеток с микроядрами, но и клеток с другими аномалиями ядра [9, 10]. На примере оценки воздействия табачной жвачки и облучения области головы и шеи у пациентов онкологической клиники показано, что сдвиги частот клеток с повреждениями, отличными от микроядер, выражены сильнее, чем клеток с микроядрами, причём учёт этих дополнитель-

ных повреждений повышает чувствительность метода для выявления токсических/генотоксических эффектов. Биологический смысл генотоксических эффектов был определён в этих работах как инициация канцерогенеза, цитотоксических – как промоция канцерогенеза. Проявлениями генотоксичности было предложено считать повышение частоты эпителиоцитов с микроядрами (следствие разрывов хромосом и нарушения митоза), частоты МЯ в форме разбитых яиц, частоты двуждерных клеток, а также эпителиоцитов с такими признаками, общими для апоптоза и некроза, как пикноз ядра, конденсированный хроматин в ядре и кариорексис. В качестве проявления цитотоксичности было названо повышение частоты клеток с признаками, общими для процессов некроза и кератинизации эпителия, – пикноз ядра, конденсированный хроматин в ядре, кариорексис и кариолизис.

Интерпретация биологического значения указанных аномалий до настоящего времени существенно не изменилась. Более уверенно стали относить к генотоксическим событиям протрузии ядра (не только предложенные Tolbert P.E. и соавт. [9, 10] «разбитые яйца», но и почки в форме пузырьков [11]) в связи с работами на культурах клеток Shimizu N. и соавт. [12], показавшими возможность удаления из ядра в микроядро незаконно амплифицированной ДНК. Для отслеживания процесса созревания эпителиоцитов ввели учёт соотношения базальных, промежуточных и терминально дифференцированных клеток [13].

Настоящая публикация представляет фрагмент пилотного комплексного многопараметрового исследования, направленного на разработку методологии оценки влияния запаха на здоровье населения. При планировании данного фрагмента мы предполагали возможность присутствия генотоксических соединений в воздухе и, принимая во внимание беспороговую модель канцерогенеза, высокую вероятность связи между содержанием генотоксикантов в окружающей

среде и генотоксическими эффектами в эпителиоцитах детей. Поэтому оценка эффектов нестабильности генома у детей стала одной из главных целей исследования.

Материалы и методы

Для изучения влияния загрязнения атмосферного воздуха на развитие эффектов нестабильности генома выбрали город с населением 50 тыс. человек, в котором функционировали крупные предприятия отраслей пищевой промышленности и агропромышленного комплекса: предприятие по производству растворимого кофе, ветсанутиль завод, сахарный завод и др. Предприятия I–II классов опасности, согласно СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03, отсутствовали.

Для регистрации направления распространения загрязнений воздуха, в том числе запаха выбросов предприятий, а также расстояний относительно источников запаха (ИЗ) использовали ситуационный план предприятия и карту района его размещения. По градиенту удалённости от ИЗ и с учётом розы ветров выбрали шесть дошкольных образовательных организаций (ДОО). На территориях для прогулок старших и средних групп этих ДОО, которые посещают дети 5–7 лет, отбирали пробы воздуха для физико-химического анализа.

Работу проводили в октябре 2018 г. Пробы воздуха отбирали в сорбционные трубки в соответствии с [14]. Во время отбора проб воздуха ни на одной из территорий ДОО посторонний запах не ощущался, поэтому за его интенсивность принимали расчётные значения, полученные в соответствии с «Методикой расчёта концентраций в атмосферном воздухе вредных веществ, содержащихся в выбросах предприятий» РД 52.04.212-86 (утв. Госкомгидрометом СССР 04.08.1986 г., № 192).

Химико-аналитические исследования по идентификации и количественному определению органических соединений, содержащихся в пробах атмосферного воздуха, выполнены в лаборатории физико-химических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России на хромато-масс-спектрометре Focus DS с DSQ (США), имеющем чувствительность на уровне и ниже гигиенических нормативов для широкого спектра органических веществ C_1 – C_{20} [15–17].

Полный список химических соединений, выявленных в пробах воздуха, сопоставили со списком канцерогенов IARC (МАИР) [18], а отсутствующие в списке IARC вещества проверили с точки зрения возможной индукции генотоксических эффектов по базе данных PubMed [19–26]. Кроме того, реальное содержание химических соединений в пробах сравнивали с имеющимися нормативами: определяли степень превышения норматива (С/ПДК) и рассчитывали суммарное значение С/ПДК для каждой обследованной территории отдельно для соединений, обладающих и не обладающих канцерогенной и/или мутагенной активностью.

В каждом ДОО накануне взятия проб эпителия проводили родительское собрание для объяснения родителям смысла, задач и методов обследования. Родители, разрешившие обследование своих детей, заполняли бланк информированного согласия на участие ребёнка в обследовании. Все полученные данные были деперсонализированы.

Мазки со слизистой оболочки щеки стерильными деревянными одноразовыми шпателями после двукратного полоскания рта остуженной до комнатной температуры кипячёной водопроводной водой отбирали только у тех детей, которые, кроме разрешения родителей, сами не возражали против этой процедуры. Клетки распределяли по обезжиренному предметному стеклу, высушивали на воздухе и фиксировали в течение 2 мин 96°-м этанолом. После доставки в лабораторию мазки фиксировали в течение 10 мин в спиртово-уксусной смеси 3 : 1, окрашивали 2%-м ацетоорсеином при 37 °С и промывали дистиллированной водой. Цитоплазму клеток докрашивали 1%-м водным раствором зелёного светлого и промывали дистиллированной водой. Всего соскоб эпителиоцитов был выполнен у 112 детей 5–7 лет.

Взятие материала, фиксацию клеток, окрашивание препаратов и их цитомный анализ проводили по [7, 11, 27–31].

При проведении цитомного анализа шифрованные препараты просматривали в проходящем свете под микроскопом Olympus (BX41 или CX31) при увеличении 100×10 (масляная иммерсия). Результаты расшифровывали только по окончании цитомного анализа всех препаратов. Для идентификации микроядер (МЯ) использовали набор строгих критериев [9, 10]. От каждого ребёнка анализировали 2000 отдельно лежащих эпителиальных клеток с ядром, имеющим непрерывный гладкий край и различимый рисунок хроматина. Учитывали клетки с МЯ и протрузией ядра, а также клетки с перинуклеарной вакуолью, ядерными вакуолями и наличием двух или более ядер [7, 11, 27–31]. Все проанализированные клетки относили к одной из категорий зрелости: базальные, промежуточные или зрелые. Параллельно сверх этих 2000 клеток учитывали отдельно лежащие клетки с ядром, не имеющим непрерывного гладкого края и/или различного рисунка хроматина в ядре, и потому непригодные для анализа МЯ: клетки с конденсированным хроматином в ядре, пикнозом ядра, кариорексисом, кариолизисом и поглощёнными апоптотическими тельцами в цитоплазме [29, 32]. Эти клетки также относили к соответствующим категориям степени зрелости. Микрофотографии основных видов генотоксических и токсических эффектов в эпителиоцитах, учтённых в данном обследовании детей, показаны на рис. 1.

Конечные результаты представляли в соответствии со стандартным международным протоколом [11], дополненным собственной модификацией [28, 29, 32]. При этом частоты клеток с МЯ и протрузиями ядра для каждого ребёнка определяли относительно 2000 клеток за вычетом количества обнаруженных на стекле базальных и промежуточных клеток. Частоты клеток разной степени зрелости (как и клеток с аномалиями, отличными от МЯ и протрузий ядра) оценивали относительно суммы всех просмотренных клеток.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 10.2 for Windows. Определяли характер распределения и, при нормальном распределении, рассчитывали средние арифметические величины, стандартное отклонение и границы 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). При отличии от нормального распределения оценивали значения медианы, нижнего и верхнего квартилей. Для сравнения между когортами детей из разных ДОО использовали критерий Манна–Уитни, для корреляционного анализа – критерий Спирмена. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты цитомного анализа представлены в табл. 1. Значения всех проанализированных показателей не выходят за пределы значений, установленных в литературе для групп сравнения [11, 30, 33], а также за пределы ранее определённых в нашей лаборатории базовых уровней для детей 5–7 лет из разных городов [27–29, 34]. Исключение составляют частоты клеток с пикнозом ядра и с кариорексисом, которые в данном исследовании оказались несколько выше установленных нами ранее*.

По результатам хромато-масс-спектрометрических исследований проб атмосферного воздуха на площадках для прогулок обследованных детей всего обнаружено 78 органических веществ, относящихся к разным классам химических соединений. Содержание веществ, обладающих генотоксической активностью, приведено в табл. 2, не обладающих генотоксической активностью – в табл. 3.

* В настоящем исследовании в соответствии с международным протоколом в качестве пикнотичных учитывали ядра размером до 2/3 от ядра зрелой клетки вместо ядер с диаметром в пределах 6 мкм, а в категории кариорексиса включали не только клетки с классическим кариорексисом по абрису сморщенного ядра, но также и клетки с широким абрисом ядра, имеющего рисунок хроматина типа «соль с перцем» по Koss L.G. [33], что может быть одной из причин обнаруженных различий.

Результаты цитомного анализа эпителия слизистой оболочки щеки детей
Results of cytome analysis of children's cheek mucosa epithelium

Клетки Cells	Частота клеток разного типа, % Frequencies of cells of different types, %	Дошкольные образовательные организации (расстояние от основного источника запаха, м) Kindergartens (distance from the main source of odor, m)					
		A (1740)	B (3010)	C (3030)	D (4280)	E (5580)	F (5870)
Базальные клетки ¹ Basal cells ¹	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	9.79 2.97 ÷ 16.62 0.92–22.00	5.64 3.56 ÷ 7.71 0.00–18.50	8.40 2.22 ÷ 14.59 0.47–40.98	10.84 2.23 ÷ 19.45 0.83–52.78	6.94 3.81 ÷ 10.07 0.00–31.03	6.07 2.75 ÷ 9.40 0.00–39.41
Промежуточные клетки ¹ Intermediate cells ¹	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	39.69 13.16 ÷ 66.23 2.81–82.56	43.29 30.10 ÷ 56.49 3.71–112.40	54.43 33.62 ÷ 75.24 1.93–97.70	50.51 27.20 ÷ 73.83 3.40–121.50	48.56 30.33 ÷ 66.79 0.00–152.57	46.68 33.46 ÷ 59.90 2.36–98.83
Зрелые клетки ¹ Mature cells ¹	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	826.90 765.31–888.49 727.85–916.67	799.15 764.81–833.50 652.27–945.13	811.09 753.07–869.12 538.92–962.28	824.55 772.51–876.59 712.49–963.56	820.35 782.23–858.46 687.01–951.30	810.98 777.97–843.99 656.17–946.39
Клетки с числом ядер более одного ² Cells with more than one nucleus ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	6.85 3.67 ÷ 10.03 0.93–11.92	8.19 6.13 ÷ 10.24 0.93–22.73	8.55 5.14 ÷ 11.96 0.47–22.31	8.06 5.61 ÷ 10.51 1.63–12.94	8.41 6.18 ÷ 10.64 0.92–15.90	8.30 6.32 ÷ 10.29 0.00–19.00
Клетки с перинуклеарной вакуолью ² Cells with perinuclear vacuole ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	19.22 13.65 ÷ 24.78 9.93–30.46	18.54 15.22 ÷ 21.89 5.54–36.38	18.82 10.21 ÷ 27.43 0.00–58.09	19.01 13.33 ÷ 24.70 4.79–40.82	15.84 11.80 ÷ 19.88 3.89–38.24	18.49 14.46 ÷ 22.51 2.37–42.49
Клетки с ядерной вакуолью ² Cells with nuclear vacuole ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	0.94 0.00 ÷ 2.11 0.00–3.58	1.06 0.19 ÷ 1.94 0.00–9.97	1.55 0.22 ÷ 2.88 0.00–7.24	1.10 0.05 ÷ 2.16 0.00–5.91	0.74 0.32 ÷ 1.16 0.00–3.11	1.12 0.52 ÷ 1.71 0.00–6.43
Клетки с конденсирован- ным хроматином в ядре ² Cells with condensed nuclear chromatin ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	58.52 32.46–84.57 22.81–119.98	81.76 66.92–96.60 9.06–150.09	69.53 38.25–100.81 26.60–249.77	59.38 32.45–86.32 10.69–135.46	66.93 48.94–84.91 11.91–158.60	68.75 56.27–81.22 12.56–148.20
Клетки с кариорексисом ² Caryorhectic cells ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	2.81 0.25 ÷ 5.38 0.00–9.20	5.32 2.06 ÷ 8.58 0.00–34.64	4.69 0.00 ÷ 10.38 0.00–37.82	2.46 1.09 ÷ 3.83 0.00–6.66	5.04 2.42 ÷ 7.66 0.00–25.21	4.42 0.48 ÷ 8.37 0.00–49.65
Клетки с кариопикнозом ² Pyknotic cells ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	15.79 8.71 ÷ 22.88 6.55–28.61	12.10 9.23 ÷ 14.97 0.00–27.94	9.13 5.42 ÷ 12.85 0.88–23.44	8.42 5.04 ÷ 11.81 0.47–16.22	11.32 6.71 ÷ 15.94 0.00–45.77	11.33 8.48 ÷ 14.17 0.48–28.29
Клетки с лизисом ядра ² Karyolytic cells ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	18.29 4.69 ÷ 31.89 0.46–38.94	23.60 13.97 ÷ 33.22 0.00–104.32	12.45 4.08 ÷ 20.81 0.00–55.64	14.14 7.34 ÷ 20.94 0.49–30.65	14.35 8.25 ÷ 20.46 0.00–43.92	22.35 14.73 ÷ 29.97 0.00–82.01
Клетки с поглощённым апоптотическим телом ² Cells with absorbed apoptotic body ²	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	1.19 0.00 ÷ 2.49 0.00–3.92	1.35 0.44 ÷ 2.25 0.00–9.31	1.35 0.58 ÷ 2.11 0.00–4.42	1.52 0.36 ÷ 2.68 0.00–6.24	1.52 0.38 ÷ 2.66 0.00–11.95	1.51 0.48 ÷ 2.53 0.00–12.32
Клетки с микроядром ³ Cells with micronucleus ³	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	0.19 0.00 ÷ 0.41 0.00–0.51	0.14 0.05 ÷ 0.24 0.00–0.51	0.14 0.00 ÷ 0.32 0.00–1.01	0.12 0.00 ÷ 0.25 0.00–0.51	0.13 0.01 ÷ 0.25 0.00–1.01	0.20 0.05 ÷ 0.34 0.00–1.53
Клетки с протрузией ядра ³ Cells with nuclear protrusion ³	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	0.51 0.19 ÷ 0.83 0.00–1.02	1.07 0.48 ÷ 1.66 0.00–5.50	1.45 0.62 ÷ 2.27 0.00–4.58	1.60 0.74 ÷ 2.46 0.00–5.52	1.12 0.69 ÷ 1.55 0.00–3.01	1.63 0.75 ÷ 2.51 0.00–10.03
Сумма клеток с микроядром или протрузией ядра ³ Sum of cells with micronucleus and/or nuclear protrusion ³	Среднее / Average value 95% ДИ / 95% CI Min-max	0.70 0.38 ÷ 1.01 0.00–1.02	1.21 0.61 ÷ 1.81 0.00–5.50	1.59 0.76 ÷ 2.42 0.00–4.58	1.72 0.79 ÷ 2.64 0.00–6.02	1.25 0.83 ÷ 1.67 0.00–3.01	1.83 0.94 ÷ 2.72 0.00–10.03

Примечание. ¹ частоты клеток разной степени зрелости; ² частоты аномальных клеток относительно всех проанализированных клеток; ³ частоты аномальных клеток относительно суммы зрелых и промежуточных клеток с непрерывным гладким краем ядра.

Note. ¹ the frequencies of cells of different degrees of maturity; ² the frequencies of abnormal cells relative to all analyzed cells; ³ the frequencies of abnormal cells relative to the sum of mature and intermediate cells with a continuous smooth edge of the nucleus.

Таблица 2 / Table 2

Содержание генотоксических соединений в пробах воздуха, отобранных на площадках для прогулок обследованных ДОО
Content of genotoxic compounds in air samples collected from children's walking areas in the examined preschool educational institutions

Номер CAS CAS number	Класс канцерогенной опасности/ссылка Carcinogenic hazard class / reference	Название Name	Концентрация в пробах с территорий ДОО, мг/м ³ Concentration in the samples from different the Kindergarten, mg/m ³					
			A	B	C	D	E	F
78-79-5; 1999	2B	Изопрен / Isoprene	0.002	0.002	< 0.001	< 0.001	0.004	0.003
71-43-2; 2018	1	Бензол / Benzene	0.003	0.002	0.002	0.001	0.002	0.002
108-88-3; 1999	3	Толуол / Toluene	0.03	0.003	0.03	0.01	0.02	0.06
100-42-5; 2019	2A	Стирол / Styrene	0.001	0.001	0.001	< 0.001	0.001	< 0.001
611-14-3	1A–1B	Этилметилбензол / Ethyl methyl benzene	0.002	< 0.001	0.004	0.003	0.001	0.002
95-63-6	[5]	Триметилбензол / Trimethylbenzene	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001
103-65-1	3	Пропилбензол / Propylbenzene	0.001	0.001	0.003	< 0.001	0.002	0.003
91-20-3; 2002	2B	Нафталин / Naphthalene	0.008	0.001	0.006	0.005	0.004	0.003
86-57-7; 1989	3	α -метилнафталин / α -Methyl naphthalene	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	< 0.001	0.001
5989-27-5	3	Лимонен / Limonen	0.17	0.05	0.12	0.13	0.09	0.1
100-52-7	[6]	Бензальдегид / Benzaldehyde	0.002	< 0.001	0.003	0.008	0.007	0.010
64-17-5	1	Этанол / Ethanole	0.06	0.03	0.03	0.05	0.08	0.12
67-63-0	3	Изопропанол / Isopropanole	0.02	0.01	0.03	0.01	0.01	0.009
109-99-9; 2019	2B	Тetraгидрофуран / Tetrahydrofurane	0.002	0.01	0.003	0.001	0.001	0.002
123-91-1	2B	Диоксан / Dioxane	0.003	0.001	< 0.001	0.001	0.002	< 0.001
110-00-9	2B	Фуран / Furan	0.009	0.001	0.007	0.004	0.006	0.007
98-00-0	2B	Фурфуриловый спирт / Furfuryl alcohol	0.004	0.001	0.005	0.008	0.004	0.007
591-78-6	2B	Метилбутилкетон / Methyl butyl ketone	0.009	< 0.001	0.02	0.01	0.02	0.006
58-08-2	3	Кофеин / Caffeine	0.01	0.001	0.005	0.006	0.008	0.01
110-86-1	2B	Пиридин / Pyridine	< 0.001	< 0.001	0.001	0.002	< 0.001	0.001
75-09-2	2A	Дихлорметан / Dichloromethane	< 0.001	0.001	0.001	< 0.001	0.001	< 0.001
67-66-3	2B	Хлороформ / Chloroform	0.004	0.001	0.002	0.002	0.001	0.002
56-23-5	2B	Тетрахлорметан / Tetrachloromethane	0.007	0.001	0.02	0.01	0.004	0.009
107-06-2	2B	Дихлорэтан / Dichloroethane	0.004	0.002	0.003	0.001	0.003	0.007
127-18-4	2B	Тетрахлорэтилен / Tetrachlorethylene	0.003	0.002	0.007	0.006	0.001	< 0.001
108-90-7	2B, анеуген	Хлорбензол / Chlorobenzene	0.001	< 0.001	0.003	< 0.001	0.001	0.001
108-86-1	[26]	Бромбензол / Bromobenzene	0.019	0.007	0.036	0.02	0.011	0.02
Суммарное содержание генотоксикантов в пробах воздуха Total content of genotoxicants in air samples			0.413	0.161	0.392	0.306	0.311	0.476

Примечание. По классификации Международного агентства по изучению рака (IARC, МАИР) [19]: в группу 1 включаются соединения, группы соединений, производственные процессы или профессиональные воздействия, а также природные факторы, для которых существуют достоверные сведения о канцерогенности для человека. В исключительных случаях в эту же группу относят факторы, для которых нет достаточных свидетельств в пользу канцерогенности для человека, однако существуют убедительные доказательства канцерогенности для животных, и канцерогенность обеспечивается за счёт известных механизмов; группа 2 по степени доказательности на основе эпидемиологических, экспериментальных данных и результатов краткосрочных тестов разделена на подгруппы 2A и 2B. К группе 2A отнесены агенты с весьма высокой степенью доказательности, то есть если они (вещества/факторы) имеют ограниченные для человека и убедительные для животных свидетельства канцерогенности.

В эту группу включены также агенты, которые имеют ограниченные доказательства канцерогенного риска для человека или убедительные данные в отношении животных, но при этом поддержаны положительными результатами краткосрочных тестов. Группа 2B включает вещества, вероятно, вызывающие рак у человека, то есть имеющие либо ограниченные или неадекватные доказательства канцерогенности для человека в отсутствие убедительных свидетельств в опытах на животных; группа 3 включает агенты (факторы), которые на основании имеющихся в настоящее время сведений не могут быть классифицированы в отношении их опухолеродной активности для человека; группу 4 составляют агенты, очевидно, неканцерогенные для человека.

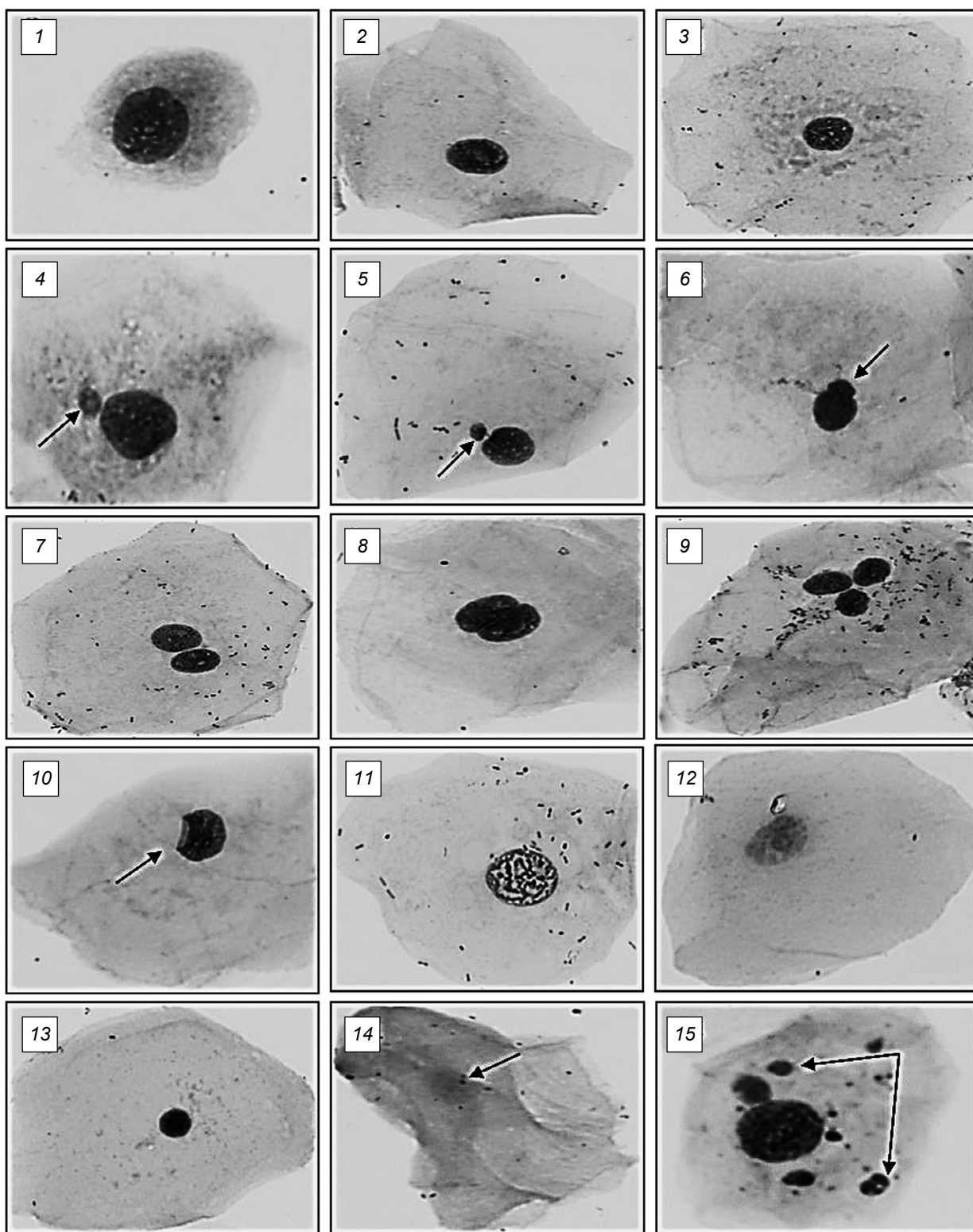
Note. According to the classification of the International Agency for Research on Cancer (IARC) [19]: group 1 includes compounds, groups of compounds, industrial processes or occupational exposures, and natural factors for which there is reliable evidence of carcinogenicity to humans. In exceptional cases, the same group includes factors for which there is not sufficient evidence in favour of human carcinogenicity, but there is convincing evidence of carcinogenicity in animals, and carcinogenicity is ensured by known mechanisms; group 2 is divided into subgroups 2A and 2B according to the degree of evidence-based on epidemiological, experimental data and the results of short-term tests. Group 2A includes agents with a very high degree of evidence, that is, if they (substances/factors) have limited evidence for humans and convincing animal evidence of carcinogenicity. Also included in this group are agents that have limited evidence of carcinogenic risk in humans or convincing animal data but are supported by positive short-term test results. Group 2B includes substances that are likely to cause cancer in humans, that is, those that have either limited or inadequate evidence of carcinogenicity in humans in the absence of conclusive evidence in animal studies; group 3 includes agents (factors) that, based on currently available information, cannot be classified concerning their tumorigenic activity in humans; group 4 are agents that are non-carcinogenic to humans.

Таблица 3 / Table 3

Содержание веществ (мг/м³), не обладающих генотоксической активностью, в пробах воздуха, отобранных на площадках для прогулок детей в обследованных ДОО

Content (mg/m³) of non-genotoxic compounds in air samples collected from children's walking areas in the examined preschool educational institutions

Вещество Substance	ДОО / Kindergartens					
	A	B	C	D	E	F
Гексан и изомеры / Hexane and isomers	0.12	0.07	0.09	0.07	0.06	0.11
Гептан и изомеры / Heptane and isomers	0.15	0.01	0.14	0.1	0.08	0.09
Октан и изомеры / Octane and isomers	0.07	0.02	0.09	0.03	0.07	0.05
Нонан / Nonane	0.06	< 0.001	0.07	0.02	0.03	0.01
Декан / Decane	0.13	0.04	0.11	0.09	0.08	0.07
Додекан / Dodecane	0.05	0.02	0.03	0.04	0.01	0.02
Пентадекан / Pentadecane	0.14	0.11	0.19	0.1	0.12	0.09
Гексадекан / Hexadecane	0.16	0.05	0.13	0.23	0.21	0.13
Циклогексан / Cyclohexane	0.09	0.07	0.08	0.05	0.06	0.09
Метилциклогексан / Methylcyclohexane	0.06	0.008	0.05	0.04	0.03	0.08
Диметилциклогексан / Dimethylcyclohexane	0.18	0.002	0.12	0.13	0.11	0.17
Гексен / Hexene	0.001	0.003	0.003	0.004	0.006	0.007
Октен / Octene	0.01	0.001	0.002	0.007	0.002	0.01
Дивинилацетилен / Divinylacetylene	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	< 0.001	0.001
Циклопентадиен / Cyclopentadiene	0.001	< 0.001	0.003	< 0.001	0.007	< 0.001
орто-Ксилол / Ortho-Xylene	0.01	0.002	0.02	0.03	0.01	0.009
пара-Ксилол / para-Xylene	0.04	0.005	0.04	0.01	0.002	0.03
α-пинен / α-pinene	0.08	0.05	0.03	0.1	0.11	0.08
β-пинен / β-pinene	0.03	0.03	0.05	0.02	0.02	0.09
Карен / Karene	0.04	0.09	0.08	0.07	0.1	0.03
Сабинен / Sabinene	0.09	0.09	0.13	0.03	0.07	0.08
Уксусная кислота / Acetic acid	0.005	0.01	0.02	0.03	0.007	0.01
Пропионовая кислота / Propionic acid	0.009	0.001	0.002	0.004	0.006	0.009
Бутановая кислота / Butanoic acid	0.001	0.001	0.008	0.002	0.001	0.003
Пентановая кислота / Pentanoic acid	0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.002	0.001
Гексановая кислота / Hexanoic acid	0.005	0.001	0.004	0.003	0.001	0.002
Фталевая кислота / Phthalic acid	< 0.001	< 0.001	0.001	0.001	< 0.001	< 0.001
Фталевый ангидрид / Phthalic anhydride	0.001	0.006	0.002	0.003	0.002	< 0.001
Этилацетат / Ethyl Acetate	0.01	0.009	0.02	0.03	0.03	0.008
Пропилацетат / Propyl Acetate	0.008	0.003	0.01	0.002	0.009	0.003
Бутилпропионат / Butylpropionate	0.003	< 0.001	< 0.001	0.004	< 0.001	0.002
Этилбуаноат / Ethylbutanoate	0.004	< 0.001	0.005	0.002	0.004	0.007
Бутилбуаноат / Butylbutanoate	0.009	0.001	0.007	0.006	0.01	0.004
Фенилацетат / Phenyl Acetate	0.01	0.004	0.009	0.01	0.007	0.009
Гептаналь / Heptanal	< 0.001	< 0.001	0.001	< 0.001	0.001	0.001
Нонаналь / Nonanal	0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001
Диэтиловый эфир / Diethyl ether	0.007	0.03	0.005	0.003	0.004	0.002
Метилфуран / Methylfuran	0.001	0.004	0.001	0.003	0.002	0.001
Камфора / Camphor	0.07	0.02	0.08	0.07	0.09	0.05
Борнеол / Borneole	0.008	0.001	0.03	0.009	0.006	0.02
Ацетон / Acetone	0.03	0.006	0.02	0.01	0.04	0.02
Метилэтилкетон / Methyl Ethyl ketone	0.007	0.004	0.01	0.006	0.01	0.005
Метилвинилкетон / Methyl Vinyl Ketone	< 0.001	0.002	0.001	< 0.001	0.003	0.002
2,3-бутандион / 2,3-Butanedione	0.03	0.002	0.01	0.001	< 0.001	< 0.001
2,3-пентандион / 2,3-Pentanedione	0.008	0.001	0.01	—	0.01	0.006
2-метилпиразин / 2-Methylpyrazine	0.01	—	0.008	0.007	0.01	—
2,6-диметилпиразин / 2,6-Dimethylpyperazine	0.007	0.001	0.01	0.008	0.01	0.005
2-этил, 5-метилпиразин / 2-Ethyl,5-methylpyrazine	< 0.001	< 0.001	0.002	0.002	0.001	0.001
2,6-диэтилпиразин / 2,6-Diethylpyrazine	0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	< 0.001	0.002
Суммарное загрязнение Total content of none genotoxic compounds in air samples	1.787	0.788	1.784	1.409	1.483	1.436



1 – базальная клетка / basal cell; 2 – промежуточная клетка / intermediate cell; 3 – зрелая клетка / mature cell; 4 – микроядро / micronuclei; 5, 6 – протрузия ядра / protrusion of the nuclei; 7 – двуядерная клетка / binucleated cell; 8 – клетка со сдвоенным ядром / cell with a double nucleus; 9 – трёхъядерная клетка / trinucleated cell; 10 – перинуклеарная вакуоль / perinuclear vacuole; 11 – клетка с конденсированным хроматином в ядре / nuclei with condensed chromatin; 12 – кариорексис / karyorexis; 13 – пикноз / pyknosis; 14 – лизис ядра / lysis of the nucleus; 15 – апоптотические тела / apoptotic bodies

Рис. 1. Микрофотографии основных видов генотоксических и токсических эффектов в эпителиоцитах. Красители орсеин, зелёный светлый, увеличение 100×10 , масляная иммерсия.

Fig. 1. Photomicrographs of the main types of genotoxic and toxic effects in epithelial cells. Dyes orsein, light green, 100×10 , oil immersion.

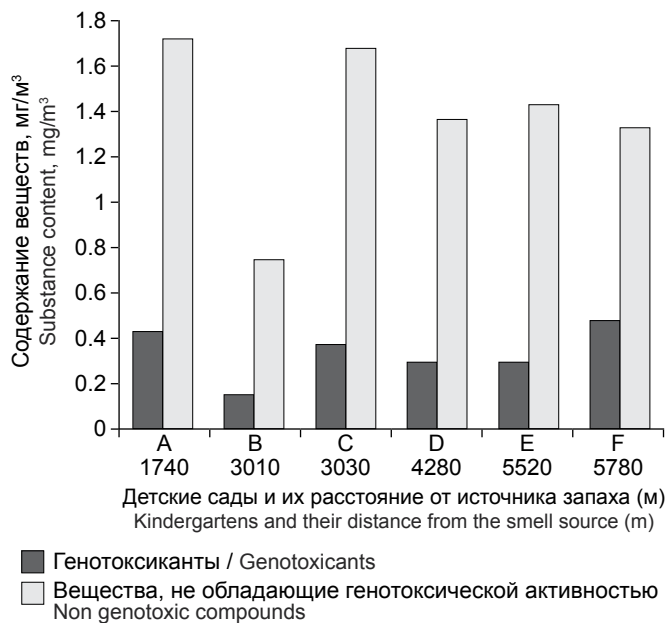


Рис. 2. Суммарное содержание органических соединений, обладающих и не обладающих генотоксической активностью, обнаруженных в пробах воздуха с площадок для прогулок детей в обследованных ДОО.

Fig. 2. Total concentrations of organic compounds with and without genotoxic activity found in air samples collected in children's walking areas of surveyed kindergartens.

На рис. 2 показаны обобщённые результаты химического анализа проб атмосферного воздуха, отобранных на территориях ДОО: ни для веществ, обладающих генотоксической активностью, ни для соединений, у которых такая активность не выявлена, не обнаружена зависимость их содержания в пробах воздуха от расстояния до ИЗ.

Частота клеток с микроядрами является самым важным показателем микроядерного теста, позволяющим прогнозировать наличие генотоксической активности. В данной работе достоверным регрессионным уравнением $y = 0,5628x + 0,122$ оказались связаны суммарное содержание веществ, обладающих генотоксической (мутагенной, анеугенной и/или канцерогенной) активностью, и частота эпителиоцитов с микроядрами ($R = 0,748$; $p = 0,002$), данные представлены на рис. 3.

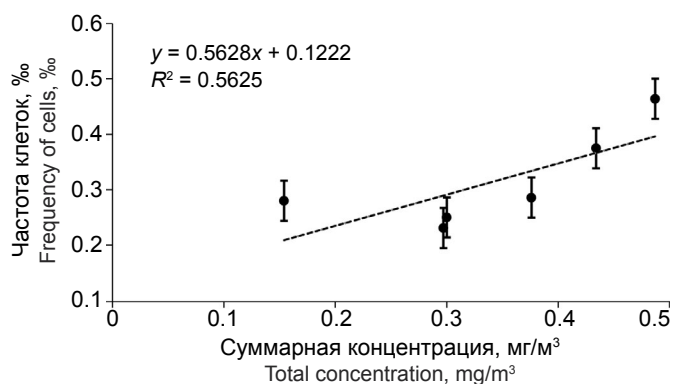


Рис. 3. Ассоциативная связь между суммарной концентрацией компонентов загрязнения воздуха, обладающих генотоксической активностью, и частотой клеток с микроядрами.

Fig. 3. Associative relationship between the summarized concentration of air pollution components with genotoxic activity and frequency of epithelial cells with micronuclei.

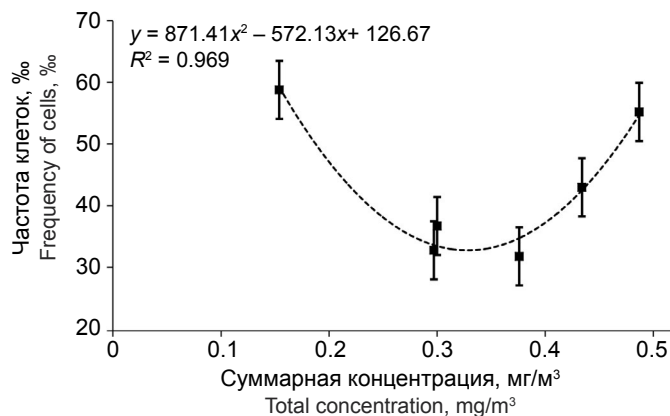


Рис. 4. Корреляция между суммарной концентрацией генотоксикантов в пробах воздуха и частотой клеток с апоптотическими телами в эпителиоцитах щеки детей.

Fig. 4. Correlations between summarized concentrations of genotoxicants in air samples and cell frequency with apoptotic bodies in children's buccal epithelial cells.

При накоплении чрезмерно большого числа генетических повреждений, которые не удалось ликвидировать, активируется запрограммированный процесс гибели таких клеток, что позволяет устранить необратимо повреждённую ДНК. При апоптозе клетка распадается на апоптотические тельца, поглощаемые или соседними клетками, или макрофагами. Поэтому частота клеток с заглоченными апоптотическими тельцами является дополнительным индикатором генотоксических эффектов. В настоящем исследовании статистически достоверная связь суммарной концентрации генотоксикантов в пробах воздуха с частотой в эпителиоцитах с заглоченными апоптотическими телами описывается уравнением: $y = 871,4x^2 - 572,13x + 126,67$; $R = 0,969$; $p = 0,041$ (рис. 4).

Обсуждение

Ограничением применения микроядерного теста на эпителиоцитах щеки является, как и для всех цитогенетических исследований, корректность формирования групп для обследования, строгость использованных критериев оценки генетических повреждений и идентичность идентификации цитогенетических эффектов при проведении цитомного анализа. В данной работе во избежание нарушения этих критериев формирование групп детей проведено с учётом половозрастных характеристик и при согласовании критериев идентификации ЭНГ перед началом цитомного анализа на зашифрованных препаратах как с данными международных исследований, так и между исследователями, принимавшими участие в проведении цитомного анализа [6, 7, 10, 11, 13, 32–34].

Результаты цитомного анализа по всем изученным показателям (см. табл. 1) находились в пределах средненормальных значений, определённых ранее как в собственных обследованиях детей из больших и малых промышленных городов Российской Федерации, так и при обследованиях детей, проведённых за рубежом [11, 30, 33]. Кроме того, ни по одному показателю не выявлены различия между когортами обследованных детей из разных ДОО, не обнаружена корреляционная связь результатов цитомного анализа с расстояниями между ДОО и ИЗ, а также между показателями цитомного анализа и расчётными уровнями запаха на площадках для прогулок обследованных детей в каждом ДОО.

В то же время выявлены высокоуровневые статистически значимые ассоциативные связи между основными показателями генотоксических эффектов в эпителиоцитах щеки — частотой клеток с микроядрами и поглощёнными апоптотическими телами и суммарной концентрацией компонентов загряз-

нения воздуха, обладающих генотоксической активностью. Особенно важно, что аналогичные ассоциативные связи для указанных показателей микроядерного теста в эпителиоцитах щеки выявлены не впервые [28]. Это свидетельствует в пользу неслучайного их характера. Следует отметить, что в ряде случаев при наличии количественных оценок загрязнения воздуха удавалось выявить даже дозовые зависимости частот аномальных клеток в эпителии щеки от уровня химической нагрузки [27, 28, 32, 34].

В токсикологических исследованиях весьма распространён подход, оценивающий суммарное превышение значения С/ПДК. Поэтому, несмотря на то что у 29% веществ, обнаруженных в ДОО на площадках для прогулок обследованных детей, ПДК или близкие по смыслу показатели не определены, мы учли имеющиеся показатели. Результаты корреляционного анализа показателей суммарного превышения значения С/ПДК и данных цитомного анализа эпителиоцитов щеки детей значимых ассоциативных связей не выявили. Таким образом, единственным из учтённых факторов, ассоциированных с индукцией эффектов нестабильности генома в эпителиоцитах обследованных детей, являются вещества, обладающие генотоксической активностью, и их содержание в воздухе, но не суммарный показатель превышения норматива.

Отсутствие запаха на территориях ДОО во время отбора проб воздуха, а также отсутствие превышения средненормативных значений по показателям цитогенетических эффектов в эпителиоцитах щеки детей может свидетельствовать об отсутствии долговременного негативного влияния специфического запаха выбросов предприятий на показатели состояния здоровья детей, проживающих в том числе в условиях экспозиции к запаху, превышающей рекомендованный критерий. Следует также отметить, что данные (см. рис. 2), демонстрирующие не связанное с удалённостью от ИЗ повышение концентрации компонентов загрязнения воздуха, по-

зволяют предположить наличие в городе как минимум ещё одного источника слабого генотоксического воздействия, функционирующего во время обследования детей или работавшего ранее в районе размещения ДОО Е и F.

Заключение

Результаты цитомного анализа эпителиоцитов щеки, несмотря на отсутствие статистически значимых различий между когортами детей из разных ДОО, показали наличие связи между суммарным содержанием компонентов загрязнения воздуха соединениями с доказанной мутагенной, анеугенной и/или канцерогенной активностью и частотой эпителиоцитов, несущих маркеры эффектов нестабильности генома: микроядра, протрузии ядра и/или заглоченные апоптозные тела. Важно, что подобные связи для этих основных показателей микроядерного теста в эпителиоцитах щеки выявлены не впервые [28], что свидетельствует в пользу их неслучайного характера.

В результате проведенного пилотного обследования также установлено, что недостаточно оценивать загрязнение атмосферного воздуха веществами только по кратности превышения норматива (ПДК_{м.р.} или ОБУВ) отдельных идентифицированных веществ, стандартно используемых в гигиенических исследованиях. Наличие изменений в организме, которые можно обнаружить лишь специальными исследованиями (в частности, путём оценки генотоксических эффектов), может говорить не только о неизвестном характере комбинированного действия обнаруженных веществ, но и о существовании эффектов, не учитываемых при обосновании нормативов качества воздуха. Поэтому в дальнейшей работе следует учесть возможность влияния совокупности различных факторов на организм человека. Такое исследование должно стать темой специального многопараметрового исследования, для которого в рамках настоящей работы намечены основные методы исследования.

Литература

(п.п. 1–7, 9–13, 18–26, 30, 31, 33 см. References)

- Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Ингель Ф.И. Микроядерный тест на клетках буккального эпителия и культуре крови человека: сравнение эффективности. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(12): 1244–8. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-12-1244-1248>
- РД 52.04.186–89. Руководство по контролю загрязнения атмосферы. М.; 1991.
- МУК 4.1.618–96. Методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе. Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе. М.; 1997.
- МУК 4.1.2594–10. Определение стирола, фенола и нафталина в воздухе методом хромато-масс-спектрологии. М.; 2010.
- МУК 4.1.2973–12. Хромато-масс-спектрометрическое определение летучих органических веществ кофе в атмосферном воздухе. М.; 2012.
- Ингель Ф.И., Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Легостаева Т.Б. Цитомный анализ эпителия слизистой оболочки щеки в комплексном генетико-гигиеническом обследовании детей в
- промышленном городе. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(10): 969–73. <https://doi.org/10.1882/0016-9900-2016-10-969-973>
- Кривцова Е.К., Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Юрцева Н.А., Синицына Е.Р., Макарова А.С. Применение цитомного анализа буккального эпителия в системе гигиенической оценки условий обучения студентов разных факультетов одного вуза. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(2): 179–87. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-179-187>
- Юрченко В.В., Подольная М.А., Ингель Ф.И., Кривцова Е.К., Беляева Н.Н., Недачин А.Е. и др. Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах. В кн.: *Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях*. М.; 2007: 220–67.
- Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Подольная М.А., Беляева Н.Н., Малышева А.Г., Дмитриева Р.А. и др. Микроядерный тест на эпителии щеки в комплексной оценке экологического благополучия детей в Москве. *Гигиена и санитария*. 2007; 86(6): 83–5.
- Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Подольная М.А., Ревазова Ю.А., Зыкова И.Е. Использование микроядерного теста на эпителии слизистой оболочки щеки человека. *Гигиена и санитария*. 2008; 87(6): 53–6.

References

- Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis. In: Hollaender A., eds. *Chemical Mutagens. Principles and Methods for Their Detection*. Boston: Springer; 1976: 31–53.
- Stich H.F., Curtis J.R., Parida B.B. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *Int. J. Cancer*. 1982; 30(5): 553–9. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910300504>
- Stich H.F., San R.H., Rosin M.P. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann. NY Acad. Sci.* 1983; 407: 93–105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1983.tb47816.x>
- Proia N.K., Paszkiewicz G.M., Nasca M.A., Franke G.E., Pauly J.L. Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer – a review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15(6): 1061–77. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-05-0983>
- Holland N., Bolognesi C., Kirsh-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knausmueller S., et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The NUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat. Res.* 2008; 659(1–2): 93–108. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.007>
- Bonassi S., Coskun E., Ceppi M., Podolny C., Burgaz S., et al. The Human MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat. Res.* 2011; 728(3): 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.06.005>
- Ceppi M., Biasotti B., Fenecch M., Bonassi S. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutat. Res.* 2010; 705(1): 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.11.001>
- Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Yurtseva N.A., Ingel F.I. Comparison of an efficiency between micronucleus test in buccal epithelial cells and cultured human blood lymphocytes. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2018; 97(12): 1244–8. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-12-1244-1248> (in Russian)

9. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epid.* 1991; 134(8): 840–50. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116159>
10. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res.* 1992; 271(1): 69–77. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(92\)90033-i](https://doi.org/10.1016/0165-1161(92)90033-i)
11. Bolognesi C., Knasmueller S., Nersesyan A., Roggieri P., Ceppi M., Bruzzone M., et al. Inter-laboratory consistency and variability in the buccal micronucleus cytochrome assay depends on biomarker scored and laboratory experience: results from the HUMNxl international inter-laboratory scoring exercise. *Mutagenesis.* 2017; 32(2): 257–66. <https://doi.org/10.1093/mutage/gew047>
12. Shimizu N., Iton N., Utiyama H. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *J. Cell. Biol.* 1998; 140(6): 1307–20. <https://doi.org/10.1083/jcb.140.6.1307>
13. Bolognesi C., Knasmueller S., Nersesyan A., Thomas P., Fenech M. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytochrome assay – An update and expanded photogallery. *Mutat. Res.* 2013; 753(2): 100–13. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002>
14. RD 52.04.186–89. Guidelines for the control of atmospheric pollution. Moscow; 1991. (in Russian)
15. MUC 4.1.618–96. Methodological guidelines for chromatographic-mass spectrometric determination of volatile organic substances in atmospheric air. Determination of concentrations of pollutants in the atmospheric air. Moscow; 1997. (in Russian)
16. MUC 4.1.2594–10. Determination of styrene, phenol and naphthalene in air by chromatographic-mass spectrometry. Moscow; 2010. (in Russian)
17. MUC 4.1.2973–12. Chromatographic-mass spectrometric determination of volatile organic substances of coffee in atmospheric air. Moscow; 2012. (in Russian)
18. IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. Available at: <https://monographs.iarc.fr/home/iarc-monographs-general-information>
19. Zimmermann F.K., Mohr A. Formaldehyde, glyoxal, urethane, methyl carbamate, 2,3-butanedione, 2,3-hexanedione, ethyl acrylate, dibromoacetonitrile and 2-hydroxypropionitrile induce chromosome loss in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 1992; 270(2): 151–66. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(92\)90126-m](https://doi.org/10.1016/0027-5107(92)90126-m)
20. Morgan D.L., Jokinen M.P., Johnson C.L., Price H.C., Gwinn W.M., Bousquet R.W., et al. Chemical reactivity and respiratory toxicity of the α -diketone flavoring agents: 2,3-Butanedione, 2,3-Pentanedione, and 2,3-Hexanedione. *Toxicol. Pathol.* 2016; 44(5): 763–83. <https://doi.org/10.1177/0192623316638962>
21. Whittaker P., Clarke J.J., San R.H., Begley T.H., Dunkel V.C. Evaluation of the butter flavoring chemical diacetyl and a fluorochemical paper additive for mutagenicity and toxicity using the mammalian cell gene mutation assay in L5178Y mouse lymphoma cells. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46(8): 2928–33. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.001>
22. Gibel W., Lohs K.H., Wildner G.P., Schramm T. Experimental studies on the carcinogenic effect of higher alcohols using 3-methyl-1-butanol, 1-propanol and 2-methyl-1-propanol as examples. *Z. Exp. Chir.* 1974; 7(4): 235–9. (in German)
23. Heger S., Du M., Bauer K., Schäffer A., Hollert H. Comparative ecotoxicity of potential biofuels to water flea (*Daphnia magna*), zebrafish (*Danio rerio*) and Chinese hamster (*Cricetulus griseus*) V79 cells. *Sci. Total Environ.* 2018; 631–632: 216–22. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.028>
24. Spiechowicz J., Wyszynska E., Dziubałowska K. Genotoxicity evaluation of trimethylbenzenes. *Mutat. Res.* 1998; 412(3): 299–305. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(97\)00202-7](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(97)00202-7)
25. Catanzaro I., Caradonna F., Barbata G., Saverini M., Mauro M., Sciandrello G. Genomic instability induced by α -pinene in Chinese hamster cell line. *Mutagenesis.* 2012; 27(4): 463–9. <https://doi.org/10.1093/mutage/ges005>
26. Takasawa H., Suzuki H., Ogawa I., Shimada Y., Kobayashi K., Terashima Y., et al. Evaluation of a liver micronucleus assay in young rats (III): a study using nine hepatotoxicants by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). *Mutat. Res.* 2010; 698(1–2): 30–7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.02.009>
27. Ingel' F.I., Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Yurtseva N.A., Legostaeva T.B. Buccal micronucleus cytochrome assay in complex genetic-hygienic study of preschool children. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2016; 95(10): 969–73. <https://doi.org/10.1882/0016-9900-2016-10-969-973> (in Russian)
28. Krivtsova E.K., Yurchenko V.V., Ingel' F.I., Yurtseva N.A., Sinityna E.R., Makarova A.S. Buccal micronucleus cytochrome assay in the system of the hygienic evaluation of learning conditions of students of different faculties of the same university. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2018; 97(2): 179–87. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-179-187> (in Russian)
29. Yurchenko V.V., Podol'naya M.A., Ingel' F.I., Krivtsova E.K., Belyaeva N.N., Nedachin A.E., et al. Micronucleus test to the buccal epithelial cells. In: *Multiorgan Micronuclear Test in Environmental Hygienic Research.* Moscow; 2007: 220–67. (in Russian)
30. Thomas P., Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., et al. Buccal micronucleus cytochrome assay. *Nat. Protoc.* 2009; 4(6): 825–37. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.53>
31. Torres-Bugarín O., De Anda-Casillas A., Ramírez-Muñoz M.P., Sánchez-Corona J., Cantú J.M., Zúñiga G. Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mutat. Res.* 1998; 413(3): 277–81. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00021-7](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00021-7)
32. Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Podol'naya M.A., Belyaeva N.N., Malysheva A.G., Dmitrieva R.A., et al. Buccal epithelial micronuclear test in the comprehensive assessment of children's ecological well-being in Moscow. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2007; 86(6): 83–5. (in Russian)
33. Koss L.G. *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Volume 1.* Philadelphia-Toronto: Lippincott Williams & Wilkins; 1979.
34. Yurchenko V.V., Krivtsova E.K., Podol'naya M.A., Revazova Yu.A., Zykova I.E. Buccal epithelial micronuclear test in the comprehensive assessment of children's ecological well-being in Moscow. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2008; 87(6): 53–6. (in Russian)