

Анализ содержания IgG к бенз(а)пирену в основной группе позволил выявить достоверное превышение аналогичного показателя в контрольной группе в 7,36 раза.

Таким образом, оценка результатов изучения полиморфизма генов, отвечающих за детоксикацию (гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков), и генов универсальных белков, которые модифицируют иммунный ответ в условиях воздействия индукторов, выявила особенности генетического полиморфизма гена CYP 1A1 и гена ФНО, а также их ассоциацию с контаминацией биосред бенз(а)пиреном и специфическим иммунологическим ответом на гаптен.

Список литературы

1. Sandford A., Weir T., Pare P. The genetics of asthma // *Am J Respir Crit Care Med.* – 1996. – Vol. 153. – P. 1749–1765.
2. Mulder G.J. Metabolic Activation of Industrial Chemicals and Implications for Toxicity // *Toxicology of industrial compounds.* Taylor & Francis Ltd. UK. – 1995. – P. 37–44.
3. van Bladeren P.J., van Ommen B. Metabolism of Reactive Chemicals // *Toxicology of industrial compounds.* Taylor & Francis Ltd. – 1995. – P. 61–72.
4. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human respiratory nasal mucosa / P.G. Gervasi, V. Longo, F. Naldi, G. Panattoni, F. Ursino // *Biochem Pharmacol.* – 1991. – Vol. 41. – P. 177–184.
5. Characterization of xenobiotic-metabolizing enzyme expression in human bronchial mucosa and peripheral lung tissues / K. Mace, E.D. Bowman, P. Vautravers, P.G. Shields, C.C. Harris, A.M. Pfeifer // *Eur. J. Cancer.* – 1998. – Vol. 34. – P. 914–920.

ОСОБЕННОСТИ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕХНОГЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, Д.Г. Дианова, А.В. Кривцов, Т.С. Лыхина, Д.В. Ланин

*ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью населения»,
г. Пермь, Россия*

Уральский регион занимает первое место среди экономических регионов по количеству суммарных выбросов вредных химических веществ в атмосферу, что снижает уровень популяционного здоровья населения в этом промышленном регионе [2]. В последнее время отмечен рост экологически зависимых видов патологии у населения [2], такая ситуация обусловлена множеством факторов под влиянием комплексного неблагоприятного воздействия экополлютантов и вредных факторов химического производства [1]. Длительное воздействие низких доз ксенобиотиков (в том числе и органических соединений) может привести к дисрегуляции иммунной системы и возникновению различных патологий [4]. Запрограммированная гибель клетки – апоптоз – играет важную роль в реализа-

ции механизмов адаптации организма к воздействию внешней среды. Это генетически регулируемый процесс, участвующий в дифференцировке, морфогенезе, а также в поддержании клеточного гомеостаза. Апоптоз является наиболее «благоприятным» механизмом утилизации дефектных клеток, так как внутриклеточные ферменты не выходят за ее пределы и не оказывают повреждающего воздействия на окружающие ткани. В то же время избыточная индукция апоптоза является причиной дефицита клеток. Многочисленные работы демонстрируют нарушения процесса запрограммированной клеточной гибели при критических состояниях как в сторону активации, так и в сторону ингибирования [3]. На сегодняшний день не получен ответ на вопрос, как условия производственной среды модифицируют запрограммированную клеточную гибель, используя CD25⁺- и CD95⁺-факторы клеточной активации.

Цель – оценить особенности запрограммированной клеточной гибели как критерия адаптации организма в условиях производства.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» г. Перми (директор, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор Н.В. Зайцева).

Критериями включения в исследование явились: информированное согласие на участие в исследовании; возраст от 18 до 60 лет; наличие рабочего стажа в условиях вредного производства. Критериями исключения из исследования явились: невозможность или нежелание дать информационное согласие на участие в исследовании; участие в другом исследовании; обследуемые с заболеваниями в стадии декомпенсации (органические поражения центральной нервной системы, заболевания сердечно-сосудистой, бронхолегочной, мочеполовой систем, заболевания желудочно-кишечного тракта, онкологические заболевания).

Соблюдение этических принципов является неотъемлемым атрибутом клинических испытаний по принципам GCP («Good Clinical Practice», Надлежащая клиническая практика, ГОСТ Р 52379-2005) – международный стандарт этических норм и качества научных исследований. Проект исследования и формы соглашений испытуемых были согласованы с этическим комитетом ФГУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» г. Перми.

Всего, включая группу контроля, обследован 111 человек в возрасте от 20 до 60 лет (средний возраст $40,63 \pm 2,40$ года), мужчин – 58 человека (52,25 %), женщин – 53 человек (47,75 %). В основную группу вошли 72 человека, по профессиональному составу рабочие предприятия, специализирующегося на производстве активированных углей, коагулянтов. Обследуемые при осуществлении профессиональной деятельности подвергаются воздействию вредных факторов рабочей среды. Возраст обследуемых основной группы от 20 до 60 лет (средний возраст $43,65 \pm 2,14$ года), мужчин – 38 человек (52,78 %), женщин – 34 человек (47,22 %). Рабочие были поделены на 4 подгруппы в зависимости от стажа в условиях вредного производства: стаж до 1 года – 19 человек, стаж от 1,1 года до 5 лет – 32 человека, стаж от 5,1 года до 8 лет – 9 человек, стаж более 8 лет – 12 человек. Контрольную группу составили 39 человек в возрасте от 20 до 54 лет

(средний возраст $39,83 \pm 2,90$ года), мужчин – 20 (51,30 %), женщин – 19 (48,70 %), не имеющих контакта с производственными вредностями. Основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту, половому составу, соматической заболеваемости. Выборка обследуемых была достаточна для достоверного определения межгрупповых различий.

Фенотипирование лимфоцитов проводили на проточном цитометре FACSCalibur фирмы «Becton Dickinson» («BD», USA) с использованием универсальной программы CellQuestPrO с помощью компьютера Macintosh. Определение популяций лимфоцитов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$, $CD25^+$, $CD95^+$, $CD16^+CD56^+$ проводили методом мембранной иммуофлюоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам («BD», USA), при этом регистрировали суммарно не менее 10.000 событий.

Определение органических соединений (мг/л) выполнялось в соответствии с методическими указаниями «Сборник методик по определению химических соединений в биологических средах», утвержденными МЗ России 06.09.99 г. № 763-99-4.1779-99, на жидкостном и газовом хроматографах.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Office и дополнительной программы статистического анализа Statistica 6.0. Достоверность различий между группами считали значимыми при $p < 0,05$.

Обсуждение результатов.

Анализ результатов выявил угнетение Т-клеточного звена у рабочих с первого года работы в условиях вредного производства (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика иммунного статуса рабочих в зависимости от стажа работы в условиях вредного производства (n=111)

Показатели	Контроль (n=39) M±m	Стаж до 1 года (n=19) M±m	Стаж от 1,1 года до 5 лет (n=32) M±m	Стаж от 5,1 года до 8 лет (n=9) M±m	Стаж > 8,1 года (n=12) M±m
$CD3^+$, %	73,00±1,16	68,00±1,82*	65,19±1,63*	66,33±2,38*	67,08±2,58*
$CD3^+$, 10^9 /л	1,51 ± 0,07	1,39±0,11	1,49±0,08	1,45 ± 0,19	1,62±0,13
$CD4^+$, %	43,10±0,90	41,47±2,04	38,71±1,39*	37,44±2,44**	43,00±2,23
$CD4^+$, 10^9 /л	0,90±0,05	0,8 ± 0,09	0,93±0,06	0,80±0,08	1,05±0,10
$CD8^+$, %	25,44±0,95	24,58±1,44	24,61±1,34	25,78±2,55	22,58±1,92
$CD8^+$, 10^9 /л	0,52±0,03	0,50±0,05	0,55±0,03	0,60±0,14	0,54±0,05
$CD19^+$, %	9,39±0,48	11,63±1,05*	10,45±0,79	8,89±1,81	11,01±1,06
$CD19^+$, 10^9 /л	0,20±0,01	0,22± 0,03	0,24±0,02*	0,20±0,05	0,26±0,03*
NKT, %	14,46±1,22	17,89±2,37	19,00±1,99*	17,56±2,48	14,55±2,48
NKT, 10^9 /л	0,30±0,02	0,34±0,05	0,73±0,29	0,38±0,06	0,36±0,09
$CD25^+$, %	9,21±0,63	15,47±1,40*	13,03±1,14*	11,80±1,72***	15,67±0,84*
$CD25^+$, 10^9 /л	0,18±0,01	0,31±0,04*	0,29±0,03*	0,25±0,04***	0,39±0,04*
$CD95^+$, %	35,14±1,55	42,42±2,37*	41,64±2,13*	40,33±2,85	44,58±2,16*
$CD95^+$, 10^9 /л	0,69±0,03	0,91±0,11*	0,95±0,06*	0,92±0,15*	1,09±0,09*

Примечание: * – разница достоверна по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$); ** – разница достоверна относительно группы контроля, стаж работы до 1 года ($p < 0,05$); *** – разница достоверна относительно стажа работы до 1 года ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ иммунограмм обследуемых зафиксировал статистически значимое снижение процента CD3⁺ относительно контрольных цифр, данные изменения отмечены независимо от трудового стажа на заводе. Достоверное уменьшение относительного числа CD4⁺ по сравнению с группой контроля выявлено у испытуемых, начиная со второго года работы в условиях вредного производства. Низкая доля CD4 в крови у обследуемых свидетельствует о том, что при хронической антигенной нагрузке CD4-T-клеточный ответ является слабым. Однако после восьмилетнего трудового стажа на производстве количество данных клеток достигает первоначального уровня и находится в диапазоне контрольных значений.

Низкая экспрессия CD3 – общего популяционного маркера T-лимфоцитов является отражением дефекта T-клеточного звена иммунитета. Снижение количества CD3⁺- и CD4⁺-клеток, возможно, также связано с повышенной экспрессией корцепторов на мембране T-лимфоцитов, обеспечивающих кооперацию клеток иммунной системы в процессе антигенной нагрузки, а также с повышением функциональной активности T-лимфоцитов. Причем на активированных клетках усиливается экспрессия FAS.

Изучение результатов показало достоверное повышение в самом начале трудовой деятельности рабочих относительного числа CD19⁺, а в периоды от 1,1 года до 5 лет и более 8 лет работы в условиях вредного производства – абсолютного числа. Во временном интервале от 5,1 года до 8 лет работы на заводе документировано, что показатели В-звена иммунной системы обследуемых не превышают контрольных цифр.

Изучение инициаторов апоптотических реакций – клеток CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ выявило, что независимо от трудового стажа количество данных клеток не отличалось от нормальных величин, за исключением достоверного увеличения относительного числа NKT-клеток в период от 1 до 5 лет работы на заводе.

Анализ результатов показал, что у всех обследуемых основной группы зафиксировано статистически значимое повышение активационного маркера CD25⁺ как в относительных, так и в абсолютных величинах по сравнению с контрольными значениями с 1-го по 5-й год работы на предприятие и после 8 лет работы в условиях вредного производства. Увеличение содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD25⁺, свидетельствует об активации T- и В-лимфоцитов. Однако при производственном стаже от 5,1 года до 8 лет отмечено достоверное снижение количества активационных клеток с иммунофенотипом CD25⁺ до контрольных значений по всем величинам, при этом уровень лимфоцитов был ниже значений, фиксируемых в начале трудовой деятельности на заводе ($p < 0,05$).

Повышение абсолютного числа сигнального маркера апоптоза CD95⁺ (FAS) у обследуемых имеет выраженный характер с высокой степенью достоверности независимо от количества лет, проработанных в условиях вредного производства. Аналогичная картина наблюдается с изменением процентного содержания FAS, за исключением того, что при трудовом стаже на заводе с 5,1 до 8 лет выявлено статистически значимое снижение данного показателя до контрольных значений. Однако FAS лишь отражает готовность клеток к рецепции

апоптогенного сигнала. Вклад CD95⁺ в клеточную гибель зависит от специфической восприимчивости клетки к FAS-зависимому апоптозу.

Когда стаж работы в условиях вредного производства составляет от 5, 1 года до 8 лет, происходит снижение функциональной активности лимфоцитов, на что указывают снижение уровня активированных клеток, в частности мононуклеаров, экспрессирующих маркеры ранней активации CD25⁺, а также уменьшение процентного содержания лимфоцитов с мембранной антигенной детерминантой CD95⁺ до контрольных значений.

Оценка уровня контаминации биосред у испытуемых основной группы позволила установить, что в организме рабочих с первого года трудовой деятельности в условиях вредного производства регистрируется значимое повышение концентрации изучаемых низкомолекулярных соединений по сравнению с группой контроля (табл. 2).

Таблица 2

Содержание низкомолекулярных химических соединений в сыворотке крови работающих в условиях производства (n=96)

Показатели (мг/л)	Контроль (n=39), <i>M ± m</i>	Стаж до 1 года (n=9), <i>M ± m</i>	Стаж от 1,1 года до 5 лет (n=27), <i>M ± m</i>	Стаж от 5,1 года до 8 лет (n=9), <i>M ± m</i>	Стаж >8,1 года (n=12), <i>M ± m</i>
Фенол	0,0531± 0,002	0,0591± 0,013	0,0662± 0,006*	0,0633± 0,015	0,0600± 0,010
О-крезол	0±0	0,0011± 0,001*	0,0011± 0,001	0,0022± 0,002*	0,0025± 0,002*
М-крезол	0,0007± 0,0005	0,0033 ± 0,002*	0,0037± 0,001*	0,0144± 0,009*	0,0017± 0,001*
П-крезол	0±0	0,0044± 0,002*	0,0037± 0,002*	0,0078± 0,003*	0,0017± 0,001

Примечание: * – разница достоверна по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

Исключение составил уровень фенола, достоверное повышение которого было зафиксировано у обследуемых при рабочем стаже от 1,1 года до 5 лет. Степень контаминации М-крезола в сыворотке крови обследуемых была выше контрольных цифр независимо от выслуги лет ($p < 0,05$). Статистически значимое увеличение содержания О-крезола относительно контрольных значений было также зафиксировано у рабочих при трудовом стаже от 5,1 год до 8 лет и при стаже более 8 лет. Достоверное возрастание уровня П-крезола по сравнению с контрольными цифрами выявлено в биосредах обследуемых с 1-го по 8-й год работы на предприятии. После восьмилетней выработки стажа концентрация фенолсодержащего соединения не имеет значимых различий с контрольными значениями.

Анализ корреляционных взаимосвязей показал, что в условиях воздействия минимальных концентраций фенола (стаж до 1 года) наблюдается достоверная обратная связь с относительным ($r = -0,81$) и абсолютным ($r = -0,52$) числом клеток с мембранным маркером CD25⁺. Аналогичная ассоциация регистрируется при стаже работы от 5,1 года до 8 лет между данным гаптенным соединением

и активационным маркером по абсолютной величине ($r=-0,16$; $p<0,05$). Положительный коэффициент корреляции фиксируется при выработке более 8 лет в условиях вредного производства в ряду фенол и абсолютное число CD95⁺ ($r=0,50$; $p<0,05$). При минимальной выработке лет в условиях вредного производства, регистрируется статистически значимая обратная взаимосвязь между О-крезолом и CD25⁺-лимфоцитами (по относительно $r=-0,52$ и абсолютному $r=-0,58$ показателям). Однако, когда трудовой стаж обследуемых составляет от 5,1 года до 8 лет, отмечается достоверная прямая взаимосвязь в рядах О-крезол и процентное содержание CD95⁺ ($r=0,73$). При работе на заводе от 1,1 года до 5 лет выявляется статистически значимая обратная корреляция между М-крезолом и % FAS ($r=-0,30$), между изучаемым низкомолекулярным гаптенем и абсолютным показателем активационного маркера CD95⁺ ($r=-0,21$). Когда производственный стаж составлял до 12 месяцев, между П-крезолом и экспрессией CD25⁺, CD95⁺ (по всем изучаемым параметрам) также отмечается значимый отрицательный индекс корреляции (r от $-0,52$ до $-0,69$). В период, от 5,1 года до 8 лет работы на заводе наблюдается достоверный положительный коэффициент ассоциации между П-крезолом и абсолютной величиной CD95⁺ ($r=0,85$), при этом регистрируется обратная взаимосвязь с CD25⁺-клетками по абсолютной величине ($r=-0,54$; $p<0,05$).

При прогredientном нарастании в биосредах рабочих концентрации фенолов и времени их экспозиции изменяется и эффект их влияния на маркеры апоптоза. Выявлено, что с увеличением в биосредах рабочих уровня фенолсодержащих соединений пропорционально возрастает количество лимфоцитов, экспрессирующих на мембране CD95⁺. Причем в период, когда у обследуемых рабочий стаж в условиях вредного производства составлял от 5,1 года до 8 лет, выявлены максимальные адаптационные возможности иммунной системы. Повышение апоптоза активированных лимфоцитов является одним из механизмов, отражающих формирование повышенной чувствительности иммунокомпетентных клеток к антигенной перестройке в условиях вредного производства. Полученные данные свидетельствуют о существовании хронической и избыточной антигенной стимуляции у лиц, занятых на вредном производстве, что способствует перестройке рецепторов иммунокомпетентных клеток и повышает их готовность к FAS-зависимому апоптозу.

Таким образом, эффект низкомолекулярных соединений группы фенола на маркеры апоптоза зависит не только от их концентрации в биосредах обследуемых, но и от стажа работы в условиях химического производства. Нарушение регуляции механизмов апоптоза может являться одним из патогенетических механизмов развития дисфункции иммунной системы, а концентрация CD95⁺ в крови – количественным маркером этих нарушений и прогностическим критерием дезадаптации иммунной системы в условиях контаминации биосред фенолами.

Список литературы

1. Зайцева Н.В., Аверьянова Н.И., Кориюкина И.П. Экология и здоровье детей Пермского региона. – Пермь, 1997. – 146 с.

2. Гарханов А.Э., Прохоров В.Н., Ковальчук Л.А. Влияние тяжелых металлов на формирование хронической перинатальной заболеваемости и задержку внутриутробного развития плода у беременных промышленного города // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2005. – № 4. – С. 84–91.

3. Цитокиновый профиль и модуляция апоптоза при термической травм / Т.А. Ушакова, А.Г. Глоба, А.А. Карелин [и др.] // Иммунология. – 2007. – № 4. – С. 226–331.

4. Эльбекьян К.С. Коррекция металотонином нарушений иммунного статуса, вызываемых солями тяжелых металлов // Токсикологический вестник. – 2005. – № 1. – С. 38–41.

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НАНОРАЗМЕРНОГО ОКСИДА МАРГАНЦА (III, IV)

Н.В. Зайцева¹, М.А. Землянова¹, В.Н. Звездин¹, Е.В. Саенко² А.В. Тарантин¹

*¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
г. Пермь, Россия*

*²Институт технической химии –
Уральское отделение Российской академии наук,
г. Пермь, Россия*

В настоящее время в России по данным, представленным в национальной нанотехнологической сети, количество производимых наноматериалов составляет свыше 200 наименований. Несмотря на неоспоримые инновационные качества, наноматериалы, в силу особых физико-химических свойств, могут представлять определенную угрозу для здоровья и безопасности человека и окружающей среды и вызывать в будущем серьезные социальные, экономические и этические проблемы [1]. Учитывая прогнозируемый рост контакта человека с наноматериалами и их поступления во внешнюю среду, особую актуальность приобретают вопросы токсиколого-гигиенической оценки безопасности наноматериалов для здоровья человека и объектов среды обитания.

К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал по биологическим эффектам и токсикологической характеристике отдельных наноматериалов при различных путях их поступления в организм. Вместе с тем определенные аспекты физических и токсикологических параметров ряда широко распространенных в объектах среды обитания наночастиц, в частности оксида марганца, являются недостаточно изученными и требуют уточнения и систематизации [2].

Цель исследования – токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноразмерного оксида марганца (III, IV).