

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических
технологий управления рисками здоровью населения»
ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный
исследовательский университет»

**АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ
СОЦИАЛЬНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА
И АНАЛИЗА РИСКА ЗДОРОВЬЮ**

Материалы
Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием

(15–17 мая 2013 г.)

*Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко,
академика РАМН Н.В. Зайцевой*

Пермь 2013

УДК 614.7(614,1+616.6)
А38

А38 Актуальные направления развития социально-гигиенического мониторинга и анализа риска здоровью : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2013. – 642 с.

ISBN 978-5-398-01038-1

Материалы освещают результаты фундаментальных и прикладных исследований в области оценки влияния качества среды обитания на состояние здоровья населения.

Представлен богатый опыт регионов в части ведения социально-гигиенического мониторинга и анализа риска здоровью населения при воздействии вредных факторов разной природы и интенсивности. Ряд статей посвящен вопросам оценки риска здоровью работающих и мерам профилактики заболеваний.

Часть материалов отражает проблемы диагностики нарушений здоровья, в том числе на клеточном и субклеточном уровнях. Представлены современные подходы и методы химико-аналитического обеспечения инструментальных исследований, описаны методические подходы и результаты математического моделирования процессов, происходящих в организме в естественных условиях и при внешнем неблагоприятном воздействии. Отражены разработки в сфере информационных технологий, направленные на решение актуальных задач социально-гигиенического мониторинга и гигиенических оценок. Приведен региональный опыт управления рисками здоровья, в том числе на базе данных социально-гигиенического мониторинга.

Материалы предназначены для научных сотрудников, специалистов органов и организаций Роспотребнадзора, студентов высших учебных заведений медицинских специальностей, а также работников смежных отраслей науки, решающих задачи обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Редакционная коллегия:

акад. РАМН Г.Г. Онищенко, акад. РАМН Н.В. Зайцева,
проф. И.В. Май, проф. А.Ю. Попова,
Е.Н. Несевря

УДК 614.7(614,1+616.6)

ISBN 978-5-398-01038-1

© ФБУН «Федеральный научный центр
медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью
населения», 2013

7. Четвертая конференция на уровне министров по окружающей среде и охране здоровья. Европейский план действий «Окружающая среда и здоровье детей». – Будапешт, 2004. 14 с.

8. Ярилин А.А., Доценко А.Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор Foxp3 // Иммунология. 2006. № 3. С. 176–184.

Особенности полиморфизма генов белков, контролирующих запрограммированную клеточную гибель, в условиях комбинированной техногенной нагрузки

**О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович,
Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Д.Г. Дианова,
О.А. Бубнова, А.С. Баранова**

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
Пермский государственный национальный исследовательский
политехнический университет,
Пермский государственный национальный
исследовательский университет,
г. Пермь, Россия

Вследствие генетической гетерогенности популяции человека в ней присутствуют индивиды, генетические особенности которых обуславливают повышенную чувствительность к действию химических веществ, обладающих свойствами мутагенов.

Восприимчивость организма к воздействию техногенных химических факторов в значительной мере зависит от особенностей генетических ассоциаций, определяющих состояние белков, отвечающих за интенсивность и последовательность процессов апоптоза и активность состояния компонентов иммунного ответа, участвующих в реализации этого процесса. К ключевым полиморфизмам, реализующим взаимодействие факторов окружающей среды и процессов иммунологического гомеостаза относятся полиморфизмы генов транскрипционного фактора p53 и фактора некроза опухоли альфа (TNF-альфа).

Продукт гена TNF-альфа – фактор некроза опухоли альфа (TNF-альфа, кэптеин) – относится к цитокиновой системе и представляет собой клеточный медиатор макрофагов и лимфоцитов, играет важную роль в регуляции процессов дифференцировки, роста и метаболизма клеток, является медиатором воспалительных процессов, инициирует образование свободных радикалов и может способствовать развитию оксидативного стресса. Роль TNF-альфа в развитии оксидативного

стресса заключается в активации индуцибельной NO-синтазы (NOS) – энзима, ответственного за синтез оксида азота, играющего важную роль в образовании и трансформации свободных радикалов.

Известно по крайней мере 8 полиморфных вариантов гена TNFA. Фенотипический эффект некоторых из них, особенно локализованных в промоторной области гена, хорошо изучен на молекулярном и биохимическом уровнях.

В случае полиморфизма G-238A гена TNFA аллель A ассоциирован с пониженной продукцией TNF-альфа. Естественно предполагать, что снижение экспрессии гена TNFA в случае аллеля -238A приводит к уменьшению концентрации TNF-альфа белка и, соответственно, к снижению уровня NOS. Напротив, полиморфизм промоторной области гена TNFA G-308A ассоциирован с повышением продукции TNF-альфа и, таким образом, способствует повышению содержания NOS, что сопровождается увеличением концентрации свободных радикалов, которые имеют цитотоксические свойства и играют важную роль в иммуновоспалительных процессах и в развитии оксидативного стресса. Накопление свободных радикалов в свою очередь вызывает дегрануляцию тучных клеток. При этом высвобождается широкий спектр биологически активных веществ, обуславливающих гиперчувствительность и гиперреактивность.

Ген p53 – онкосупрессор, его продукт – белок p53 – контролирует ответ клетки на различные виды стресса, включая повреждения ДНК химическими и физическими агентами, нарушения микротрубочек цитоскелета, активацию онкогенов, гипоксию, гипертермию и др. Активация гена p53 ведет к остановке пролиферации клетки и к включению в ней программы апоптоза – запрограммированной клеточной гибели. Инактивация гена p53, наблюдаемая в большинстве опухолей, подтверждает его противоопухолевую функцию. Полиморфные варианты гена p53, по-видимому, снижают способность клеток к апоптозу, вследствие чего не происходит запрограммированного удаления дефектных клеток, что и является причиной патологического опухолевого и опухолеподобного процесса. При этом неблагоприятные аллельные варианты генов системы детоксикации могут существенно усиливать клеточный стресс, который в значительной степени реализуется через экспрессию гена p53.

Целью работы было выявление ассоциированных с генетическим полиморфизмом генов p53 и ФНО-альфа иммунологических нарушений у детей, проживающих в условиях комбинированной техногенной нагрузки.

Материалы и методы. При углубленном изучении состояния здоровья детского населения выполнено генетическое и иммунологическое диагностическое обследование 97 детей в возрасте от 3 до 10 лет, постоянно проживающих в зоне влияния крупного аэропорта, при этом группу контроля составили 25 детей, проживающих вне этой зоны. Анализируемые зоны воздействия формировались по принципу возрастающей удаленности от СЗЗ аэропорта и доли техногенных химических факторов в комбинированной нагрузке.

Обследование включало в себя изучение показателей гиперчувствительности (определение содержания Ig E общего, Ig E специфического к формальдегиду и марганцу методом ИФА), показателей пролиферативных реакций (определение содержания СЕА, AFP, СА 19-9, СА 72-4, CYFRA 21-1 методом ИФА), маркера состояния эндотелия сосудов (VEGF-эндотелиальный фактор роста). Выполнялось количественное определение содержания вредных химических веществ в крови

методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (формальдегид) и атомно-абсорбционной спектрофотометрии (марганец).

Определение органических соединений (мг/л) осуществлялось в соответствии с МУК 4.1.2102-4.1.2116-06 на жидкостном и газовом хроматографах.

Исследование биосред на содержание металлов (мг/дм³) выполнено в соответствии с методическими указаниями МУК 44.763-99-4.1.799-99 МЗ России методом прямого определения на атомно-абсорбционном спектрофотометре фирмы «Perkin Elmer 3110».

Забор материала для ПЦР проводился методом взятия мазков со слизистой оболочки ротоглотки. Затем выделяли ДНК с помощью сорбентного метода, в основе которого лежит разрушение клеток с дальнейшей сорбцией нуклеиновых кислот на сорбент.

Для исследования полиморфных вариантов в изучаемых генах использовали методику ПЦР, в основе чего лежит реакция амплификации и детекция продуктов этой реакции в режиме реального времени с помощью флуоресцентных меток, которыми предварительно помечают используемые для реакции амплификации праймеры. Для одновременной детекции нескольких продуктов реакции используют разные флуоресцентные метки и зонды (мультиплексная ПЦР). В качестве праймеров применяли участок ДНК генов p53 и TNFA(G308A). Для определения генотипа человека использовали метод аллельной дискриминации, когда различия между гетерозиготами, гомозиготами дикого и минорного вариантов устанавливали по таковому в протекании реакций амплификации соответствующих праймеров.

Полученные результаты. Наиболее высокие уровни загрязнения атмосферы химическими примесями, измеряемыми в рамках социально-гигиенического мониторинга (азота диоксид, серы диоксид, углерода оксид, взвешенные вещества, бензол, толуол, этилбензол, аммиак, бенз(а)пирен, фенол, формальдегид, хлористый водород, ксилол, кадмия оксид, марганец, меди оксид, ацетон, свинец), регистрируются на границе санитарно-защитной зоны аэропорта или в непосредственной близости к ней. Приоритетными примесями, которые вносят наибольшие вклады в уровни суммарного загрязнения атмосферы, являются азота диоксид, взвешенные вещества, фенол, формальдегид, марганец и его соединения. Максимальные и среднемноголетние уровни шума превышают допустимые нормы. Наибольшей шумленностью (до 90 дБ – максимальный шум и 66,6 дБ – эквивалентный шум) характеризуются территории на границе санзоны аэропорта и в непосредственной близости от нее.

Химические исследования по идентификации гаптенов показали достоверно более высокий уровень содержания формальдегида в крови детей группы наблюдения ($0,0065 \pm 0,0005$ мкг/мл) по сравнению с таковым в группе сравнения ($0,0047 \pm 0,0008$ мкг/мл) ($p < 0,05$).

Исследованиями лабораторных показателей состояния здоровья у детей доказано наличие значительного числа негативных изменений, формирующихся в организме на субклеточном, клеточном, тканевом уровнях в связи с присутствием в биологических средах в повышенных концентрациях химических примесей внешнесредового происхождения. Приоритетными факторами рисков возникновения таких нарушений являются бензол, марганец, формальдегид, толуол, медь. Так, повышение содержания в крови детей химических веществ, характерных для внешнесредовой экспозиции (прежде всего марганца, меди, формальдегида, бензола и то-

луола), достоверно связано с активацией клеточного звена иммунитета, дестабилизацией регуляторных клеточных механизмов, активацией пролиферативных, некротических и апоптотических процессов в тканях, независимо от возраста (R^2 от 0,1 до 0,89, $p < 0,05$).

Сопряженным анализом экспозиции и уровней содержания примесей в крови установлены достоверные зависимости «концентрация (доза) примеси в воздухе – концентрация примеси в крови» для бензола, марганца, и формальдегида ($p < 0,05$, R^2 от 0,10 до 0,44).

Установлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень общей и специфической сенсибилизации по критерию IgE с максимальной степенью общей сенсибилизации во 2-й зоне и выраженной специфической чувствительности к марганцу в 1-й зоне и к формальдегиду – во 2-й.

В группе обследования выявлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень общей сенсибилизации по критерию IgE ($79,22 \pm 25,38$ МЕ/мл) ($p < 0,05$).

В 1-й зоне установлен достоверно повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 66,7 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $2,81 \pm 1,63$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) ($p < 0,05$). Причем содержание специфических антител к марганцу у детского контингента 1 зоны обследования достоверно превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 2,8 раза ($p < 0,05$). Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы не различалось с его уровнем в контроле.

Во 2-й зоне установлен достоверно повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 33,3 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $1,55 \pm 0,86$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) ($p < 0,05$). Причем содержание специфических антител марганцу у детского контингента 1-й зоны обследования превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 1,5 раза без достоверности в различиях. Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы также достоверно различалось с его референтным уровнем ($p < 0,05$) и в 1,5 раза превышало аналогичный показатель в контрольной группе, но без достоверных с ним различий.

В 3-й зоне установлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 20,0 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $1,31 \pm 1,46$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) без достоверных различий. Причем содержание специфических антител марганцу у детского контингента 3-й зоны превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 1,3 раза без достоверных с ней различий. Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы достоверно не различалось с его уровнем в контроле.

Анализ отношения шансов изменения показателей специфического гуморального иммунитета при возрастании концентрации марганца и формальдегида в биологических средах позволил установить достоверное ($p < 0,05$) повышение содержания специфического IgE к формальдегиду при увеличении концентрации формальдегида в крови ($r^2 = 0,63$ при $p < 0,05$).

По результатам изучения специфических и интегральных маркеров эффекта установлены изменения содержания онкопролиферативных белков, где сравни-

тельная частотность наблюдаемых превышений нормы и контроля выше в 3-й зоне (АФП, СА199), а также во 2-й зоне (КЭА, СА724) и менее выраженными отклонениями – в 1-й зоне (АФП).

Негативные ассоциации полиморфизма генов иммунного ответа и транскрипции характеризуются измененной распространенностью минорного гомозиготного и гетерозиготного вариантов, что может способствовать хронизации инфекционных и неинфекционных заболеваний, озлокачествлению соматической патологии в форме онкологических и аутоиммунных заболеваний (таблица).

Распределение частот генов p53 и TNFA(G308A) у детей, проживающих в зоне влияния аэропорта

Генотип / аллель		2-я зона		Контроль, <i>n</i> = 25	3 зона, <i>n</i> = 16	1 зона, <i>n</i> = 22
		<i>n</i> = 19	<i>n</i> = 17			
p53	CC	58 % (11)	41 % (7)	52 % (13)	62,5 % (10)	54,5 % (12)
	GC	26 % (5)	41 % (7)	48 % (12)	25 % (4)	32 % (7)
	GG	16 % (3)	18 % (3)	0 % (0)	12,5 % (2)	13,5 % (3)
	C	71 %	62 %	76 %	75 %	70 %
	G	29 %	38 %	24 %	25 %	30 %
TNFA(G308A)	GG	84 % (16)	82 % (14)	75 % (18)	100 % (16)	59 % (13)
	AG	16 % (3)	18 % (3)	25 % (6)	0 % (0)	41 % (9)
	AA	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)
	G	92 %	91 %	87,5 %	100 %	80 %
	A	8 %	9 %	12,5 %	0 %	20 %

Анализ состояния гена p53 выявил наличие патологической гомозиготы у 18,0 % детей 2-й зоны (химические факторы и шум) при нулевой распространенности в контроле. Причем распространенность минорного аллеля у детей исследуемых групп превышала не только его частоту в контроле, но и цитируемую. В целом распространенность мутантного аллеля характеризовалось максимальными величинами также во 2-й зоне – 38 %. Причем в обследуемой зоне на долю p53 приходится половина от всех выявленных мутаций.

Состояние гена TNF-альфа, отвечающего за продолжительность жизненного цикла клетки и иммунорегуляцию, у детей основной группы характеризовалось измененным полиморфизмом у детей 1-й зоны: распространенность мутантного аллеля – 20 % против 12,5 % в контроле.

Исследование функционального состояния слухового анализатора методом аудиометрии у детей группы наблюдения позволило установить снижение относительно группы сравнения уровня слухового восприятия от 1,0 до 7,0 дБ, преимущественно на частотах 125–1500 Гц ($p \leq 0,05$). Наиболее значимое снижения уровня слуха до 9,7дБ и 7,3дБ регистрируется у детей ДДУ № 51К, 34 и № 6 ($p \leq 0,05$), т.е. в зонах наибольшего акустического дискомфорта.

Результаты иммуногенетического обследования детского населения, посещающего детские комбинаты, расположенные в зоне близости к аэропорту, выявили следующие нарушения: полиморфизм генов, отвечающих за иммунный ответ и апоптоз (TNF-альфа) характерен для детей, проживающих в наибольшей близости к аэропорту (в пределах санитарно-защитной зоны и на ее границе), причем для их генетики характерен гетерозиготный вариант, распространенность которого превышает уровень показателя на территории сравнения в 1,5 раза; распространенность минорного гомозиготного и гетерозиготного аллельного вариантов гена p53 у детей, проживающих в зонах наибольшей экспозиции, превышает уровень группы

сравнения до 1,5 раза, что указывает на повышенный риск развития онкопролиферативных процессов.

Показателями факторной нагрузки, достоверно изменяющими значения иммунитета являются марганец, формальдегид и шум.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о негативных генетических ассоциациях воздействия комбинированной техногенной нагрузки на детей, проявления которой способствуют нарушению естественных апоптогенных процессов и формированию иммунопролиферативных состояний.

Список литературы

1. Иммунные и ДНК-маркеры воздействия техногенной нагрузки / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. №4. М. С. 240–241.
2. Иммунологические и генетические маркеры воздействия ароматических углеводов на работающих / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2012. №12. С. 30–33.
3. Особенности иммунного и генетического статуса у женщин в условиях производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Т.С. Лыхина [и др.] // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6(14), № 2(1). С. 50–51.
4. Полиморфизм гена фактора некроза опухоли и гена СРОХ у работающих в условиях химического производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Д.Г. Дианова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2011. №11. С. 29–32.

Комбинированная техногенная нагрузка и полиморфизм генов детоксикации

**О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович,
Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Т.С. Лыхина,
А.В. Варанкина, А.С. Баранова**

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
Пермский государственный национальный исследовательский
политехнический университет,
Пермский государственный национальный
исследовательский университет,
г. Пермь, Россия

Актуальной гигиенической проблемой является разработка методологии выявления адаптивности отдельного человека и популяции к действию чужеродных химических соединений, связанной с полиморфизмом генов. К ключевым полиморфизмам, отражающим характер и особенности адаптации организма к факторам

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических
технологий управления рисками здоровью населения»
ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный
исследовательский университет»

**АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ
СОЦИАЛЬНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА
И АНАЛИЗА РИСКА ЗДОРОВЬЮ**

Материалы
Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием

(15–17 мая 2013 г.)

*Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко,
академика РАМН Н.В. Зайцевой*

Пермь 2013

УДК 614.7(614,1+616.6)
А38

А38 Актуальные направления развития социально-гигиенического мониторинга и анализа риска здоровью : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2013. – 642 с.

ISBN 978-5-398-01038-1

Материалы освещают результаты фундаментальных и прикладных исследований в области оценки влияния качества среды обитания на состояние здоровья населения.

Представлен богатый опыт регионов в части ведения социально-гигиенического мониторинга и анализа риска здоровью населения при воздействии вредных факторов разной природы и интенсивности. Ряд статей посвящен вопросам оценки риска здоровью работающих и мерам профилактики заболеваний.

Часть материалов отражает проблемы диагностики нарушений здоровья, в том числе на клеточном и субклеточном уровнях. Представлены современные подходы и методы химико-аналитического обеспечения инструментальных исследований, описаны методические подходы и результаты математического моделирования процессов, происходящих в организме в естественных условиях и при внешнем неблагоприятном воздействии. Отражены разработки в сфере информационных технологий, направленные на решение актуальных задач социально-гигиенического мониторинга и гигиенических оценок. Приведен региональный опыт управления рисками здоровья, в том числе на базе данных социально-гигиенического мониторинга.

Материалы предназначены для научных сотрудников, специалистов органов и организаций Роспотребнадзора, студентов высших учебных заведений медицинских специальностей, а также работников смежных отраслей науки, решающих задачи обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Редакционная коллегия:

акад. РАМН Г.Г. Онищенко, акад. РАМН Н.В. Зайцева,
проф. И.В. Май, проф. А.Ю. Попова,
Е.Н. Несевря

УДК 614.7(614,1+616.6)

ISBN 978-5-398-01038-1

© ФБУН «Федеральный научный центр
медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью
населения», 2013

сравнения до 1,5 раза, что указывает на повышенный риск развития онкопролиферативных процессов.

Показателями факторной нагрузки, достоверно изменяющими значения иммунитета являются марганец, формальдегид и шум.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о негативных генетических ассоциациях воздействия комбинированной техногенной нагрузки на детей, проявления которой способствуют нарушению естественных апоптогенных процессов и формированию иммунопролиферативных состояний.

Список литературы

1. Иммунные и ДНК-маркеры воздействия техногенной нагрузки / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. №4. М. С. 240–241.
2. Иммунологические и генетические маркеры воздействия ароматических углеводов на работающих / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2012. №12. С. 30–33.
3. Особенности иммунного и генетического статуса у женщин в условиях производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Т.С. Лыхина [и др.] // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6(14), № 2(1). С. 50–51.
4. Полиморфизм гена фактора некроза опухоли и гена СРОХ у работающих в условиях химического производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Д.Г. Дианова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2011. №11. С. 29–32.

Комбинированная техногенная нагрузка и полиморфизм генов детоксикации

**О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович,
Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Т.С. Лыхина,
А.В. Варанкина, А.С. Баранова**

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
Пермский государственный национальный исследовательский
политехнический университет,
Пермский государственный национальный
исследовательский университет,
г. Пермь, Россия

Актуальной гигиенической проблемой является разработка методологии выявления адаптивности отдельного человека и популяции к действию чужеродных химических соединений, связанной с полиморфизмом генов. К ключевым полиморфизмам, отражающим характер и особенности адаптации организма к факторам

среды, относятся полиморфизмы генов детоксикации, к которым принадлежат гены цитохрома Р-450 CYP1A1, копропорфириногеноксидазы CPOX. Взаимодействие факторов окружающей среды и процессов иммунологического гомеостаза характеризуют, в том числе, полиморфизмы генов детоксикации.

Вследствие генетической гетерогенности популяции человека в ней присутствуют индивиды, генетические особенности которых обуславливают повышенную чувствительность к действию химических веществ.

Восприимчивость организма к воздействию техногенных химических факторов в значительной мере зависит от особенностей генетических ассоциаций, определяющих состояние генов, отвечающих за экспрессию ферментов деоксикации, участвующих в реализации этого процесса.

Гены, кодирующие ферменты системы детоксикации, характеризуются генетическим полиморфизмом и обнаруживают существенные популяционные, этнические и расовые вариации, связанные с исторически сложившимися традициями, различиями продуктов питания, географической средой обитания, эпидемиями инфекционных заболеваний и пр. [2–4].

Суперсемейство цитохромов Р-450 (CYP-450) отвечает за микросомальное окисление и представляет собой группу ферментов, имеющих множество изоформ (более 1000), которые не только осуществляют метаболизм лекарств, но и участвуют в синтезе стероидных гормонов, холестерина и других веществ. Изоферменты цитохромов на основании гомологии нуклеотидной и аминокислотной последовательностей подразделяют на семейства, которые в свою очередь делят на подсемейства. Каждый изофермент цитохрома Р-450 кодируется своим геном, который локализуется на разных хромосомах. Часть таких генов имеет близко расположенные к ним псевдогены (неэкспрессирующие копии), которые существенно осложняют проведение генетического тестирования. Вследствие полиморфизма генов метаболизма активность соответствующих ферментов у разных лиц может существенно варьироваться. Семейство Р-450 CYP1 метаболизирует сравнительно небольшую часть ТХФ, самые важные из которых представлены полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ). Особенно важная роль в этом принадлежит генам CYP1A1 и CYP1A2, локализованным на хромосоме 15 [2–4].

CYP1A1 кодирует фермент арилуглеводородкарбоксылазу, который участвует в метаболизме эстрогенов, некоторых лекарственных средств (ЛС) и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) – основных компонентов табачного дыма и продуктов сжигания органического топлива. Этот фермент контролирует начальный метаболизм ПАУ, приводящий к образованию канцерогенов (например, бенз(а)пирена). Участвует в биоактивации нитрозаминов [1, 3, 4].

Сниженная активность или отсутствие некоторых ферментов 2-й фазы способствует длительному сохранению токсических промежуточных продуктов биотрансформации.

Ген CPOX кодирует синтез фермента копропорфириногеноксидазы, который катализирует окислительное декарбоксилирование металлопорфиринов. Металлопорфирины являются макроциклическими комплексами металлов (Mn, Co, Fe, Hg) и гетероциклических органических соединений (пиррол) и отличаются от бесчисленного множества других групп макроциклических комплексов тем, что являются ароматическими макроциклами с уникальной сопряженной σ -системой. В этом сопряженном состоянии металлы проявляют свою биологическую активность. При

нарушении синтеза металлопорфиринов, обусловленных дефектом гена, происходит накопление неактивных форм металлоорганических соединений в печени, селезенке, коже, что вызывает развитие симптомов интоксикации – гипербилирубинемии, гемолитическую анемию, повышение чувствительности к солнечному свету, неврологические нарушения, злокачественные опухоли.

Использование данных критериев диагностики позволит расширить доказательную базу по выявлению причинно-следственных связей патологических и преемственных состояний, обусловленных нарушениями в иммунной системе, с воздействием химических факторов среды обитания. Применение современных молекулярно-генетических технологий, в частности ПЦР, послужит основой создания критериев комплексной оценки воздействия химических факторов на адаптацию организма с дальнейшей коррекцией иммунного ответа, и, как следствие, повышением здоровья населения.

Цель работы – оценка особенностей полиморфизма генов детоксикации цитохрома P-450 CYP1A1, копропорфириногенаксидазы CPOX у детей в условиях комбинированного воздействия техногенных химических факторов (бензола, формальдегида, марганца) на примере ДНК-полиморфизма ключевых соматических генов.

Материалы и методы. При углубленном изучении состояния здоровья детского населения выполнено генетическое и иммунологическое диагностическое обследование 97 детей в возрасте от 3 до 10 лет, постоянно проживающих в зоне влияния крупного аэропорта, при этом группу контроля составили 25 детей, проживающих вне этой зоны. Анализируемые зоны воздействия формировались по принципу возрастающей удаленности от СЗЗ аэропорта и доли техногенных химических факторов в комбинированной нагрузке.

Обследование включало в себя изучение показателей гиперчувствительности (определение содержания Ig E общего, Ig E специфического к формальдегиду и марганцу методом ИФА), показателей пролиферативных реакций (определение содержания СЕА, AFP, СА 19-9, СА 72-4, CYFRA 21-1 методом ИФА), маркера состояния эндотелия сосудов (VEGF-эндотелиальный фактор роста). Выполнялось количественное выявление содержания вредных химических веществ в крови методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (формальдегид) и атомно-абсорбционной спектрофотометрии (марганец).

Определение органических соединений (мг/л) выполнялось в соответствии с МУК 4.1.2102-4.1.2116-06 на жидкостном и газовом хроматографах.

Исследование биосред на содержание металлов (мг/дм³) выполнено в соответствии с методическими указаниями МУК 44.763-99-4.1.799-99 МЗ России методом прямого определения на атомно-абсорбционном спектрофотометре фирмы «Perkin Elmer 3110».

Забор материала для ПЦР проводился методом взятия мазков со слизистой оболочки ротоглотки. Затем проводили выделение ДНК с помощью сорбентного метода, в основе которого лежит разрушение клеток с дальнейшей сорбцией нуклеиновых кислот на сорбент.

Для исследования полиморфных вариантов в изучаемых генах использовали методику ПЦР, в основе чего лежит реакция амплификации и детекция продуктов этой реакции в режиме реального времени с помощью флуоресцентных меток, которыми предварительно помечают используемые для реакции амплификации

праймеры. Для одновременной детекции нескольких продуктов реакции применяют разные флуоресцентные метки и зонды (мультиплексная ПЦР). В качестве праймеров использовали участок ДНК генов цитохрома P-450 CYP1A1 (rs4646421 и rs1048943), копропорфириногеноксидазы CPOX (rs1131857). Для определения генотипа человека применяли метод аллельной дискриминации, когда различия между гетерозиготами, гомозиготами дикого и минорного вариантов устанавливали по различиям в протекании реакций амплификации соответствующих праймеров.

Полученные результаты. Среднемноголетнее загрязнение атмосферного воздуха наиболее загрязненной зоны (граница санитарно-защитной зоны аэропорта) достоверно выше, чем на территории сравнения по азота диоксиду, серы диоксиду, взвешенным веществам, бензолу, толуолу, формальдегиду, марганцу, свинцу, меди.

Приоритетными примесями, которые вносят наибольшие вклады в уровни суммарного загрязнения атмосферы, являются азота диоксид, взвешенные вещества, фенол, формальдегид, марганец и его соединения.

Наибольшей зашумленностью (до 90 дБ – максимальный шум и 66,6 дБ – эквивалентный шум) характеризуются территории на границе санзоны аэропорта и в непосредственной близости от нее.

Химические исследования по идентификации гаптенов показали достоверно более высокий уровень содержания формальдегида в крови детей группы наблюдения ($0,0065 \pm 0,0005$ мкг/мл) по сравнению с таковым в группе сравнения ($0,0047 \pm 0,0008$ мкг/мл) ($p < 0,05$).

В крови детей, проживающих в зоне влияния аэропорта, регистрируются ксенобиотики техногенного происхождения – бензол, толуол, ксилолы, а также формальдегид и его гомологи на более высоком уровне, чем на территории сравнения (кратность превышения от 1,1 до 1,6 раза). Данные концентрации достоверно превышают таковые ароматических углеводородов и алифатических альдегидов, характерные для контаминации биологических сред детей, проживающих вне зон техногенного влияния ($p < 0,05$).

Исследованиями лабораторных показателей состояния здоровья у детей доказано наличие значительного числа негативных изменений, формирующихся в организме на субклеточном, клеточном, тканевом уровнях в связи с присутствием в биологических средах в повышенных концентрациях химических примесей внешнесредового происхождения. Приоритетными факторами рисков возникновения таких нарушений являются бензол, марганец, формальдегид, толуол, медь. Так, повышение содержания в крови детей химических веществ, характерных для внешнесредовой экспозиции (прежде всего марганца, меди, формальдегида, бензола и толуола), достоверно связано с активацией клеточного звена иммунитета, дестабилизацией регуляторных клеточных механизмов, активацией пролиферативных, некротических и апоптотических процессов в тканях, независимо от возраста (R^2 от 0,1 до 0,89, $p < 0,05$).

Сопряженным анализом экспозиции и уровней содержания примесей в крови установлены достоверные зависимости «концентрация (доза) примеси в воздухе – концентрация примеси в крови» для бензола, марганца, и формальдегида ($p < 0,05$, R^2 от 0,10 до 0,44).

В группе обследования установлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень общей сенсибилизации по критерию IgE ($79,22 \pm 25,38$ МЕ/мл) ($p < 0,05$).

В 1-й зоне установлен достоверно повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 66,7 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $2,81 \pm 1,63$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) ($p < 0,05$). Причем содержание специфических антител марганцу у детского контингента 1-й зоны достоверно превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 2,8 раза ($p < 0,05$). Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы не различалось с его уровнем в контроле.

Во 2-й зоне выявлен достоверно повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 33,3 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $1,55 \pm 0,86$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) ($p < 0,05$). Причем содержание специфических антител марганцу у детского контингента 1-й зоны превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 1,5 раза без достоверности в различиях. Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы также достоверно различалось с его референтным уровнем ($p < 0,05$) и в 1,5 раза превышало аналогичный показатель в контрольной группе, но без достоверных с ним различий.

В 3-й зоне установлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к марганцу (у 20,0 % детей) по критерию IgE (содержание специфического IgE к марганцу – $1,31 \pm 1,46$ МЕ/мл при норме $< 1,21$) без достоверных различий. Причем содержание специфических антител марганцу у детского контингента 3-й зоны превышало аналогичный уровень в контрольной группе в 1,3 раза без достоверных с ней различий. Содержание специфического IgE к формальдегиду у обследуемой группы достоверно не различалось с его уровнем в контроле.

Анализ отношения шансов изменения показателей специфического гуморального иммунитета при возрастании концентрации марганца и формальдегида в биологических средах позволил установить достоверное ($p < 0,05$) повышение содержания специфического IgE к формальдегиду при увеличении концентрации формальдегида в крови ($r^2 = 0,63$ при $p < 0,05$).

По результатам изучения специфических и интегральных маркеров эффекта установлены изменения содержания онкопролиферативных белков, где сравнительная частотность наблюдаемых превышений нормы и контроля выше в 3-й зоне (АФП, СА199), а также во 2-й (КЭА, СА724) и менее выраженными отклонениями – в 1-й (АФП).

Наблюдается достоверное возрастание шансов роста содержания фетальных белков при повышении концентрации марганца: КЭА ($r^2 = 0,14$ при $p < 0,05$); СА 72-4 ($r^2 = 0,92$ при $p < 0,05$); бензола: СА 72-4 ($r^2 = 0,69$ при $p < 0,05$); КЭА ($r^2 = 0,16$ при $p < 0,05$); формальдегида СА 72-4 ($r^2 = 0,61$ при $p < 0,05$).

Негативный полиморфизм генов детоксикации характеризуется повышенной над группами сравнения и контроля распространенности патологического аллеля варианта гена CYP1A1 (9893A/G) в 1-й исследуемой зоне с максимальной интенсивностью техногенных факторов (таблица).

Оценка результатов ДНК-диагностики полиморфизма генов, отвечающих за 2-ю фазу детоксикацию (гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков) в ус-

ловиях воздействия индукторов, выявила особенности генетического полиморфизма гена CYP1A1, а также их ассоциацию с контаминацией биосред металлами и специфическим иммунологическим ответом на гаптен.

Распределение частот генов CYP1A1 (9893A/G) и CYP1A1 (921A/C)
у детей, проживающих в зоне влияния аэропорта

Генотип / аллель		2-я зона		Контроль, <i>n</i> = 25	3-я зона, <i>n</i> = 16	1-я зона, <i>n</i> = 22
		<i>n</i> = 19	<i>n</i> = 17			
CYP1A1	AA	89,5 % (17)	100 % (17)	68 % (17)	69 % (11)	68 % (15)
	AG	10,5 % (2)	0 % (0)	32 % (8)	31 % (5)	27 % (6)
	GG	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)	5 % (1)
	A	95 %	100 %	84 %	84 %	82 %
	G	5 %	0 %	16 %	16 %	18 %
CYP1A1 (921A/C)	AA	53 % (10)	53 % (9)	56 % (14)	75 % (12)	73 % (16)
	AC	47 % (9)	35 % (6)	40 % (10)	25 % (4)	27 % (6)
	CC	0 % (0)	12 % (2)	4 % (1)	0 % (0)	0 % (0)
	A	76 %	71 %	76 %	87,5 %	86 %
	C	24 %	29 %	24 %	12,5 %	14 %

Распространенность патологического аллеля CYP1A1 (ген цитохрома), отвечающего за 1-ю фазу детоксикации органических токсикантов, у детей, проживающих в непосредственной близости к аэропорту (1-я зона), достоверно превышает уровень сравнения, в то же время повышенная распространенность патологического аллеля CYP1A1 (копропорфириногеноксидазы), отвечающего за конъюгацию металлопротеинов, характерна для детей из наиболее загрязненной химическими компонентами зоны наблюдения (2-я зона).

Исследование функционального состояния слухового анализатора методом аудиометрии у детей группы наблюдения позволило установить снижение относительно группы сравнения уровня слухового восприятия от 1,0 до 7,0 дБ, преимущественно на частотах 125–1500 Гц ($p \leq 0,05$). Наиболее значимое снижение уровня слуха до 9,7 и 7,3 дБ регистрируется у детей ДДУ № 51К, 34 и № 6 ($p \leq 0,05$), т.е. в зонах наибольшего акустического дискомфорта.

Результаты иммунологического обследования детского населения, посещающего детские комбинаты, расположенные в зоне аэропорта, выявили следующие нарушения и приоритетные зоны с максимальными их проявлениями: повышение экспрессии онкопролиферативных белков, где сравнительная частотность наблюдаемых превышений нормы и контроля выше в 3-й зоне (АФП, СА199), а также во 2-й (КЭА, СА724); полиморфизм генов, отвечающих за 1-ю и 2-ю фазы детоксикации (гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков) характерен для детей, проживающих в 1-й зоне, причем в минорном гомозиготном состоянии; изменен полиморфизм копропорфириногеноксидазы и у детей 2-й зоны, причем для их генетики характерен и гетерозиготный вариант, а распространенность минорной гомозиготы превышает контроль в 3,0 раза. Показателями факторной нагрузки, достоверно изменяющими значения иммунитета являются марганец, формальдегид, бензол.

Таким образом, негативный генетический фон (гены детоксикации) в условиях воздействия комбинированной техногенной нагрузки ассоциирован с иммунными нарушениями у детей, сопряженными с дефектами обмена веществ и иммунологического гомеостаза.

Список литературы

1. Иммунные и ДНК-маркеры воздействия техногенной нагрузки / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. №4. М. С. 240–241.
2. Иммунологические и генетические маркеры воздействия ароматических углеводородов на работающих / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2012. №12. С. 30–33.
3. Особенности иммунного и генетического статуса у женщин в условиях производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Т.С. Лыхина [и др.] // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6(14), № 2(1). С. 50–51.
4. Полиморфизм гена фактора некроза опухоли и гена СРОХ у работающих в условиях химического производства / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Д.Г. Дианова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2011. №11. С. 29–32.

Особенности маркерных показателей иммунных и генетически опосредованных механизмов невынашивания в условиях экспозиции фенолами

**О.В. Долгих, В.Б. Алексеев, О.Ю. Дугина,
А.М. Гугович, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина,
А.С. Баранова, О.А. Бубнова**

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
Пермский государственный национальный исследовательский
политехнический университет,
Пермский государственный национальный
исследовательский университет,
МУЗ «МСЧ №7»,
г. Пермь, Россия

Актуальным является выявление маркерных показателей иммунных механизмов невынашивания и анализ полиморфизма генов для оценки влияния на здоровье женщин внешнесредовой экспозиции. Использование современных диагностических иммунологических и молекулярно-генетических технологий, в частности, проточной цитометрии и ПЦР, позволяет провести объективную и достоверную оценку иммунного ответа и полиморфизма его генов у женщин с невынашиванием в условиях повышенной техногенной химической нагрузкой. Анализ и использование в дальнейшем современных диагностических критериев расширяет доказательную базу по выявлению причинно-следственных связей патологических

*К.Г. Горшкова, О.В. Долгих, Д.В. Ланин, Р.А. Харахорина,
А.С. Баранова, О.А. Бубнова*

Особенности иммунной и эндокринной регуляции у работающих в металлургической промышленности

Показано, что на фоне повышенного уровня содержания ванадия и марганца в крови наблюдаются: угнетение фагоцитоза, снижение продукции IgG, повышение специфических антител к марганцу, активизация экспрессии ранних активационных антигенов (CD25⁺), повышенный уровень гормонов гипоталамико-надпочечниковой оси. При этом показателями факторной нагрузки, достоверно изменяющими значения показателей иммунитета, выступили ванадий и марганец.

Ключевые слова: ванадий, марганец, иммунный ответ, эндокринная регуляция.

*А.М. Гугович, О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина,
А.С. Баранова, О.А. Бубнова*

Полиморфизм генов MMP9 И MMP12 в условиях химической внешнесредовой экспозиции

Представлены результаты исследований особенностей распределения частот генов MMP9 и MMP12 детей в условиях комбинированной экспозиции бензолом, толуолом, формальдегидом, марганцем и кадмием. Выявлены особенности генетического полиморфизма генов MMP9 и MMP12, а также их ассоциация с контаминацией биосред химическими мутагенами и специфическим иммунологическим ответом на гаптен.

Ключевые слова: полиморфизм генов, ген MMP9, ген MMP12, бензол, формальдегид, марганец.

*Д.Г. Дианова, Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, Р.А.Харахорина, Е.Д. Маерова,
А.С. Баранова, О.А. Бубнова*

Иммунологические маркеры эффекта у детей, проживающих в условиях санитарно-гигиенического неблагополучия

Проведено изучение популяционного состава мононуклеаров периферической крови у детей, проживающих на территории интенсивного промышленного освоения, методом проточной цитофлюориметрии. Результаты исследования продемонстрировали, что у детей достоверно снижена экспрессия CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-маркера на лимфоцитах ($p < 0.05$), что предполагает нарушение адаптационных процессов в условиях экспозиции фенолом и формальдегидом.

Ключевые слова: фенол, формальдегид, CD-маркер, процесс адаптации.

*О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Д.Г.,
Дианова, О.А. Бубнова, А.С. Баранова*

Особенности полиморфизма генов белков, контролирующих запрограммированную клеточную гибель, в условиях комбинированной техногенной нагрузки

Проведен анализ особенностей распределения частот генов TNFA G-308A и p53 у детей в условиях комбинированной химической экспозиции бензолом, толуолом, формальдегидом, марганцем и кадмием. Выявлены особенности генетического полиморфизма генов TNFA G-308A и p53, а также их ассоциация с контаминацией биосред химическими мутагенами и специфическим иммунологическим ответом на гаптен.

Ключевые слова: ген TNFA, ген p53, полиморфизм генов, шум, формальдегид, марганец.

<i>Д.Г. Дианова, Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, А.С. Баранова, О.А. Бубнова</i> Иммунологические маркеры эффекта у детей, проживающих в условиях санитарно-гигиенического неблагополучия	431
<i>О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Д.Г. Дианова, О.А. Бубнова, А.С. Баранова</i> Особенности полиморфизма генов белков, контролирующих запрограммированную клеточную гибель, в условиях комбинированной техногенной нагрузки	435
<i>О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Т.С. Лыхина, А.В. Варанкина, А.С. Баранова</i> Комбинированная техногенная нагрузка и полиморфизм генов детоксикации	440
<i>О.В. Долгих, В.Б. Алексеев, О.Ю. Дугина, А.М. Гугович, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина, А.С. Баранова, О.А. Бубнова</i> Особенности маркерных показателей иммунных и генетически опосредованных механизмов невынашивания в условиях экспозиции фенолами	446
<i>О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина, Е.Д. Маерова, Т.С. Лыхина, О.А. Бубнова, А.С. Баранова</i> Полиморфизм генов белков, отвечающих за состояние эндотелия сосудов в условиях комбинированной техногенной нагрузки	451
<i>М.Р. Камалтдинов</i> Математические подходы к моделированию пищеварительных процессов, происходящих в условиях негативного воздействия факторов среды обитания	457
<i>Е.Д. Маерова, О.В. Долгих, Л.А. Кибукевич, А.В. Варанкина</i> Состояние иммунологического здоровья детей, проживающих в условиях экспозиции формальдегидом	461
<i>И.А. Минигалиева, Т.Д. Дегтярёва, Б.А. Кацнельсон, Л.И. Привалова, В.В. Рыжов, Т.В. Слышкина, О.Ю. Береснева</i> Защита от ингаляционной токсичности формальдегида с помощью комплекса аминокислот	464
<i>А.В. Тарантин, М.А. Землянова</i> Фракционирование белков плазмы крови при выявлении влияния на протеомный профиль человека внешнесредового аэрогенного комбинированного воздействия ванадия, никеля и марганца	468
<i>О.Г. Толмачева, К.П. Лужецкий, О.А. Маклакова, О.Ю. Устинова, А.И. Аминова</i> Особенности течения дисфункций билиарной системы у детей, проживающих в условиях воздействия антропогенных факторов (свинец, хром, марганец, никель)	471