

УДК 614.878]:661.7+669

Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, К. П. Лужецкий, С. В. Клейн

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Пермь, Россия

ОБОСНОВАНИЕ БИОМАРКЕРОВ ЭКСПОЗИЦИИ И ЭФФЕКТА В СИСТЕМЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ПРИЧИНЕНИЯ ВРЕДА ЗДОРОВЬЮ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ НЕПРИЕМЛЕМОГО РИСКА, ОБУСЛОВЛЕННОГО ФАКТОРАМИ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ

Представлены элементы научно-методических подходов, предлагаемых для решения задач установления причинно-следственных связей нарушений состояния здоровья при выявлении неприемлемого риска, обусловленного воздействием факторов среды обитания различного происхождения. Существующий опыт и результаты собственных научных исследований позволили разработать систему биомониторинга, включающую биомаркеры экспозиции и эффекта, предназначенные для формирования доказательной базы причинения вреда здоровью человека при негативном воздействии внешнесредовых и производственных химических факторов в микро- и нанодиапазоне. Внедрение и использование новых высокочувствительных аналитических методов позволили анализировать механизмы возникновения и развития ответных реакций организма на внешнесредовое воздействие на самых ранних стадиях их формирования. Разработано порядка 30 критериев биохимических, иммунных, гематологических и молекулярно-генетических маркеров эффектов, характеризующих полиморфизм генов, нарушение окислительно-антиоксидантных процессов, развитие генетической нестабильности, хромосомных нарушений. Научное обоснование разработанной методологии базируется на принципах доказательной медицины, эпидемиологического анализа, теоретических знаниях и согласуется с международно-практикой оценки риска.

Ключевые слова: неприемлемый риск; факторы среды обитания; биомаркеры экспозиции и эффекта; причинно-следственные связи; вред здоровью.

N. V. Zaitseva, M. A. Zemlyanova, K. P. Lugeckiy, S. V. Kleyn

Perm State University, Perm, Russian Federation
FSC for Medical and Preventive Health Risk Management Technologie, Perm, Russian Federation

SCIENTIFIC JUSTIFICATION OF THE EXPOSURE AND EFFECT BIOMARKERS IN TERMS OF PROVING HEALTH IMPACT WHEN IDENTIFYING ENVIRONMENTALLY-DETERMINED UNACCEPTABLE RISK

The article describes the elements of scientific and methodological approaches proposed for establishing of the causality of health effects in the detection of environmentally-determined unacceptable risk. Research experience and the results of own studies allowed to develop a biomonitoring system that includes exposure and effect biomarkers intended to generate evidence basis to prove the connection between health effects and micro- and macroscale chemical factors. The introduction and application of the new high-sensitive and analytical techniques has allowed to analyze the mechanisms behind the development of the bodily responses to the external impact at the earliest stages (cellular and molecular level). About 30 criteria of the biochemical, immune, hematological and molecular-genetic effects markers that characterize genetic polymorphism, the failure of oxidation-antioxidant processes, including at the cell DNA level, of the proteomic profile, bone metabolism, neuro-endocrine regulation hematopoiesis, development of specific sensitization, activation of cell death that reflect pathomorphosis of the blood, respiratory, gastrointestinal, cardiovascular, and central nervous system disorder, the development of genetic instability and chromosomal abnormalities. Scientific justification of the developed methodology is based on the principles of evidence-based medicine, epidemiological analysis, theoretical knowledge, and is consistent with the international risk assessment practice.

Key words: unacceptable risk; environmental factors; exposure and effect biomarkers; causal relationship; health effect.

Одной из задач проведения санитарно-эпидемиологических экспертиз, расследований и иных видов гигиенических оценок является построение системы доказательств, направленных на установление и устранение вредного воздействия факторов

среды обитания на здоровье человека.

В соответствии с современными проблемно ориентированными направлениями научных исследований фундаментального и прикладного характера, как в мире, так и в России, актуальным

является разработка научно-методического обеспечения системы доказательств причинно-следственных связей нарушений состояния здоровья при выявлении неприемлемого риска, обусловленного факторами среды обитания. Согласно мнению экспертов ВОЗ, основным инструментом в оценке индивидуальных и популяционных рисков для здоровья населения, связанных с воздействием химических веществ, является обоснование и использование биомаркеров эффекта и экспозиции [Principles ..., 2006; Biomarkers ..., 2011; Centers ..., 2011].

Материалы и методы

Данное направление активно развивается в ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», в рамках которого проводятся масштабные исследования для задач формирования доказательной базы причинения вреда здоровью населения, обусловленного факторами среды обитания различного генеза [Зайцева, Май, Клейн, 2013]. Разрабатываемые и апробируемые подходы к обоснованию биомаркеров экспозиции и эффекта и их использованию для установления причинно-следственных связей носят системный характер и базируются на совокупных результатах научного анализа опасности и риска, связанных с действием факторов среды обитания на человека, эпидемиологических исследований, на теоретических знаниях о закономерностях и особенностях реализации негативного воздействия внешних факторов на организм, органно-тканевом, клеточно-субклеточном, молекулярно-генетическом уровнях.

В рамках развития методологии доказательств причинения вреда здоровью предложены подходы, при которых возникновение и развитие нарушений состояния здоровья, ассоциированных с воздействием факторов среды обитания, оценивается с точки зрения опасности воздействия факторов риска различного происхождения (химические, физические, биологические). Установление и определение степени выраженности патологического процесса основано на разработанной системе диагностики, базирующейся на оценке и подтверждении экспозиции, идентификации биомаркеров эффекта дифференцированно по критическим органам и системам, анализе системных связей маркеров экспозиции с маркерами негативного ответа [Руководство ..., 2004].

Результаты и их обсуждение

В результате реализации разработанной методологии обосновано и внедрено в практику гигиенических оценок и экспертиз порядка 30 критериев биохимических, иммунных, гематологических и молекулярно-генетических маркеров эффектов, характеризующих полиморфизм генов, нарушение окислительно-антиоксидантных процессов, в том

числе на уровне ДНК клетки, протеомного профиля, костного метаболизма, нейро-эндокринной регуляции, супрессии процесса кроветворения, развития специфической сенсибилизации, активации клеточной гибели, отражающих патоморфоз болезней крови, органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и центральной нервной системы, развитие генетической нестабильности, хромосомных нарушений. При этом разработка и внедрение новых высокочувствительных аналитических методов позволяет анализировать механизмы возникновения и развития ответных реакций организма на самых ранних стадиях (клеточно-молекулярный уровень) их формирования на внешнесредовое воздействие

Рекомендованы реперные (безопасные) уровни содержания порядка 15 маркеров экспозиции в крови (марганца, никеля, ванадия, хрома, свинца, стирола, бензола, фенола, метанола, формальдегида и др.), обоснованные в соответствии с международной практикой оценки риска. Разработаны и внедрены тест-системы для биомониторинга состояния здоровья (порядка 45 показателей) при скрининговых и углубленных исследованиях населения и работающих для установления негативных эффектов при воздействии внешнесредовых и производственных химических факторов в микро- и нанодиапазоне (порядка 30 веществ, относящихся к классам ароматических углеводородов, кислородсодержащих и хлорорганических соединений, альдегидов, металлов и др.).

Углубленными исследованиями показано, что у детей в зонах экспозиции химических факторов, обусловленных неудовлетворительным качеством атмосферного воздуха от источников выбросов металлургических производств (коэффициент опасности $HQ = 2.5-4.5$), происходит нарушение протеомного профиля плазмы крови, ассоциированного с повышенной (в 2-3 раза относительно референтного уровня) концентрацией металлов в крови. При этом доказано, что биомаркерами эффекта, установленными по расчету отношения шансов (OR) [Флетчер, Флетчер, Вагнер, 1998], при экспозиции ванадия является повышение уровня аполипротеина A1, при экспозиции никеля – повышение уровня транстеритина, снижение гаптоглобина ($OR = 2.5-2.9$; $DI = 1.7-3.8$; $p = 0.001-0.015$). Неблагоприятный эффект воздействия может реализоваться в виде нарушения транспорта холестерина и тироксина, структуры и функции гемоглобина, что характеризует в последующем изменение метаболического профиля у детей.

В зонах неприемлемого риска ($HQ = 6-7$), обусловленного экспозицией бензола от источников выбросов нефтехимических производств и автотранспорта, маркером экспозиции является концентрация бензола в крови на уровне 0.01 мг/дм^3 и выше. Биомаркерами установленных негативных эффектов, например, нарушения гомеостаза свободно-радикаль-

ного окисления, является повышение уровня малонового диальдегида и снижение общей антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови (OR = 1.6–2.3; DI = 1.2–2.8; $p = 0.000–0.01$); стимуляции нейрогуморальной регуляции – повышение уровня ТТГ, кортизола, снижение уровня Т4свободного в сыворотке крови (OR = 1.8–2.9; DI = 1.5–3.5; $p = 0.000–0.02$); угнетения костно-мозгового кроветворения – снижение уровня эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов (OR = 2.4–3.5; DI = 2.1–3.8; $p = 0.000–0.001$). Следствием данных процессов является нарушение внутрисердечной проводимости и условий циркуляции в сосудистом русле, что может вызвать рост заболеваемости детского населения вегето-сосудистой дистонией, как предиктором сердечно-сосудистых заболеваний в последующих возрастных периодах [Онищенко, Зайцева, Землянова, 2011].

В условиях неприемлемого риска (HQ = 1.5–3.5), обусловленного хронической экспозицией хлорорганических соединений, в крови идентифицирован хлороформ, 1,2-дихлорэтан, дибромхлорметан, тетрахлорметан на уровне концентраций 0.0001–0.02 мг/дм³. Выделен комплекс биомаркеров, отражающих негативные эффекты со стороны критических органов и систем. О повышенном цитолизе мембраны клеток свидетельствует повышение активности АСАТ в сыворотке крови. Нарушение синтеза белка рибосомами гепатоцитов в сторону гипофункции, вследствие повреждения клеток печени, характеризует снижение уровня общего белка, альбумина, сиаловых кислот в сыворотке крови ($R^2 = 0.29–0.56$; $250.98 \leq F \leq 1010.66$; $p = 0.000–0.004$). Об активации окислительных процессов (как следствие повреждения клеточных мембран печени) свидетельствует повышение уровня гидроперекиси липидов и малонового диальдегида в плазме крови ($R^2 = 0.22–0.48$; $10.88 \leq F \leq 101.22$; $p = 0.000–0.028$). Напряжение функционального состояния системы антиоксидантной защиты в результате интенсивного образования активных форм кислорода характеризует повышение общей АОА, активности глутатионпероксидазы, Zn-зависимой супероксиддисмутазы в сыворотке крови ($R^2 = 0.04–0.74$; $10.27 \leq F \leq 409.3$; $p = 0.000–0.002$).

При потреблении питьевой воды с повышенным содержанием марганца (до 3.5 предельной допустимой концентрации (ПДК)) у детей регистрируется повышенное содержание марганца в крови (до 4.5 раз относительно референтного уровня). Негативные эффекты воздействия на нервную систему выражаются в повышенной частоте патологического дисбаланса нейромедиаторов, регулирующих процессы возбуждения и торможения в ЦНС (биомаркеры эффекта – повышение глутамата и снижение гамма-аминомасляной кислоты в сыворотке крови, OR = 3.4–6.1; DI = 2.2–10.5; $p =$

0.000). Данный процесс инициируется активизацией окислительного повреждения клеточно-субклеточных структур (повышение уровня гидроперекисей липидов и малонового диальдегида, снижение глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы в сыворотке крови), на фоне нарушения нейроэндокринной регуляции (снижение уровня кортизола и серотонина, OR = 5.4–7.2; DI = 4.3–9.5; $p = 0.000$) и обеспечения нервно-мышечной проводимости ионизированным кальцием, что в целом является прогностически неблагоприятной тенденцией развития в последующем нейропсихологических и двигательных нарушений.

У работников сталеплавильных производств, условия труда которых характеризуются воздействием пыли, содержащей кремний диоксид кристаллический (от 2 до 10%), в концентрации до 6.5 ПДКр.з., в крови идентифицируется кремний, в концентрации до 3 раз превышающей референтный уровень. При этом наряду с частицами традиционной дисперсности (больше 0.1 мкм), в крови присутствуют частицы кремния нанометрового размера (до 100 нм). Установлены выраженные негативные эффекты в виде нарушения окислительных и антиоксидантных процессов (по повышению уровня малонового диальдегида и снижению общей антиоксидантной активности плазмы крови), дисбаланс которых может усугублять развитие воспалительной реакции, ведущей к развитию фиброза на уровне нижних отделов системы дыхания.

У работниц текстильных производств (отбелищицы, красильщицы, колористы) при стабильном присутствии в воздухе рабочей зоны толуола до 0.056 мг/м³, свинца и марганца до 0.0012–0.00014 мг/м³, бенз(а)пирена – до 0.00010 мг/м³ в крови определяются марганец, свинец, толуол, бензпирен в концентрациях до 2 раз выше показателей сравнения. Выявлен дисбаланс половых гормонов (повышение ЛГ и ФМСГ в сыворотке крови), обеспечивающих функционирование репродуктивной системы ($R^2 = 0.93$; $F = 365.08$; $p = 0.000$).

Конкретными исследованиями показано, что в условиях населенных мест при повышенной концентрации в крови химических мутагенов и репродуктоксикантов – формальдегида, бензола, стирола, никеля, марганца, хрома (до 10 раз выше относительно референтного уровня) и наличия полиморфизма хромосом у матери, риск рождения ребенка с хромосомным дефектом увеличивается в 7 раз, а в сочетании с условиями производства – в 10 раз. Риск развития клеточных аномалий, характеризующих активацию пролиферативных и деструктивных реакций у новорожденных, матери которых профессионально связаны с воздействием, например, бензола, превышает приемлемый уровень

в 13 раз, в том числе за счет качества среды населенных мест – в 5 раз [Зайцева и др., 2013].

У детей с повышенным содержанием в крови марганца, никеля и хрома (до 13 раз выше референтного уровня), обусловленным внешнесредовой экспозицией, доказаны негативные эффекты генетической нестабильности, характеризующиеся выраженными нарушениями ядерного аппарата букальных эпителиоцитов в виде дисбаланса клеточного обновления, проявляющегося замедлением апоптозной активности (повышение частоты регистрации клеток букального эпителия с кариорексисом, кариолизисом и апоптозными телами, $p = 0.012-0.028$) и усилением активности процесса пролиферации (повышение частоты регистрации многоядерных клеток и клеток с круговой насечкой ядра, $p = 0.014-0.036$). Установлено выраженное нарушение нормального цикла митотического деления, ведущего к формированию микроядер (частота клеток с микроядрами и протрузиями до 5.0 раз выше среднероссийских показателей, $p = 0.001-0.022$). Выявлена активность окислительного повреждения на уровне ДНК клетки (повышение уровня 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в моче). Вклад марганца, никеля и хрома в повышение уровня содержания 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в моче составил 22–29%, в формирование полиморфизма хромосом лимфоцитов и аномалий ядерного аппарата букальных эпителиоцитов – 24–32% ($F = 7.73-13.85$; $p = 0.001-0.031$).

Заключение

Накопленный научно-практический опыт использования биомаркеров эффекта и экспозиции в системе доказательства причинения вреда здоровью в условиях воздействия факторов среды обитания позволяет с высокой степенью эффективности решать поставленные задачи и дает возможность предложить регионам Российской Федерации научно-методическую, организационную и практическую помощь.

Библиографический список

Зайцева Н.В. и др. Цитогенетические маркеры и гигиенические критерии хромосомных нарушений у населения и работников в условиях воздействия химических факторов с мутагенной активностью (на примере металлов, ароматических углеводородов, формальдегида). Пермь: Кн. формат, 2013. 222 с.

Зайцева Н.В., Май И.В., Клейн С.В. К вопросу установления и доказательства вреда здоровью населения при выявлении неприемлемого риска, обусловленного факторами среды обитания // Анализ риска здоровью. 2013. № 2. С. 14-27.

Онищенко Г.Г., Зайцева Н.В., Землянова М.А. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов. Пермь: Кн. формат, 2011. 489 с.

Руководство по оценке риска для здоровья населе-

ния при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду: Руководство Р 2.1.10.1920-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 143 с.

Fletcher P., Fletcher S., Wagner E. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. М.: Медиа Сфера, 1998. 352 с.

Biomarkers and human biomonitoring. Children's Health and the Environment WHO Training Package for the Health Sector World Health Organization. 2011. URL: www.who.int/ceh (дата обращения: 19.03.2014).

Centers for Disease Control and Prevention. National Biomonitoring Program. CDC. 2011. URL: www.cdc.gov/biomonitoring/ (дата обращения: 19.03.2014).

Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals (Environmental Health Criteria 237). WHO, 2006. URL: www.inchem.org (дата обращения: 19.03.2014).

References

Zaitseva N.V., Zemlianova M.A., Alekseev V.B., Shherbina S.G. *Citogenetičeskie markery i gigieničeskie kriterii chromosomnyh narušenij u nasekenija i rabotnikov v uslovijach vozdejstvija chimičeskih faktorov s mutagennoj aktivnost'ju* [Cytogenetic markers and hygienic criteria of chromosomal disorders in the population and workers in terms of exposure to chemical factors and mutagen-term activity (on metals, aromatic hydrocarbons, formaldehyde)]. Perm, Knižnyj format Publ., 2013. 222 p. (In Russ.).

Zaitseva N.V., Maj I.V., Klejn S.V. [On the issue of establishing and evidence of harm to public health in identifying unacceptable risk caused by environmental factors]. *Analiz riska zdorov'ju*. No. 2 (2013): pp. 14-27. (In Russ.).

Onishhenko G.G., Zaitseva N.V., Zemlianova M.A. *Gigieničeskaja indikacija posledstvij dlja zdorov'ja pri vnešnesredovoj žspozicii chimičeskih faktorov* [Hygienic indication of health effects at exposure by environmental chemical factors]. Perm, Knižnyj format Publ., 2011. 489 p. (In Russ.).

Rukovodstvo po ocenke riska dlja zdorov'ja nasekenija pri vozdejstvii himičeskih veshhestv, zagryaznjajushhih okružhajushhuju sredu: Rukovodstvo R 2.1.10.1920-04 [Guidelines for risk assessment to public health under the influence of chemicals, polluting environment: Guide P 2.1.10.1920-04]. Moscow, Federal'nyj centr gos-sanėpidnadzora Minzdrava Rossii, 2004. 143 p. (In Russ.).

Fletcher R., Fletcher S., Wagner Je. *Kliničeskaja ėpidemiologija* [Clinical epidemiology. Basics of Evidence-Based Medicine]. Moscow, Media Sfera Publ., 1998. 352 p. (In Russ.).

Biomarkers and human biomonitoring. Children's Health and the Environment WHO Training Package for the Health Sector World Health Organization. 2011. Available at: www.who.int/ceh (accessed 19 March 2014).

Centers for Disease Control and Prevention. National Biomonitoring Program. CDC. 2011. Available at: www.cdc.gov/biomonitoring/ (accessed 19 March 2014).

Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals (Environ-

mental Health Criteria 237). WHO, 2006. Available at: www.inchem.org (accessed 19 March 2014).

Поступила в редакцию 12.10.2016

Об авторах

Зайцева Нина Владимировна, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой экологии человека и безопасности жизнедеятельности
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15; znv@fcrisk.ru; (342)2372534

Директор
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Пермь, ул. Монастырская, 82

Землянова Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15; zem@fcrisk.ru; (342)2363930

Зав. отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Пермь, ул. Монастырская, 82

Лужецкий Константин Петрович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15; doctor_lu@fcrisk.ru; (342)2368098

Зав. клиникой медицины труда и профпатологии
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Пермь, ул. Монастырская, 82

Клейн Светлана Владиславовна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15; kleyn@fcrisk.ru; (342)2371804

Зав. отделом социально-гигиенического мониторинга
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Пермь, ул. Монастырская, 82

About the authors

Zaitseva Nina Vladimirovna, Doctor of Medicine, Professor, member of the RAS, Head of the Department of human ecology and life safety
Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; znv@fcrisk.ru; (342)2372534

Director
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies". 82, Monastyrskaya str., Perm, Russia, 614045

Zemlianova Marina Aleksandrovna, doctor of Medicine, professor of the Department of human ecology and life safety
Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; zem@fcrisk.ru; (342)2363930

Head of Department of biochemical and cytogenetic diagnostics
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies". 82, Monastyrskaya str., Perm, Russia, 614045

Lugeckiy Konstantin Petrovich, candidate of Medicine, assistant of professor of the Department of human ecology and life safety
Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; doctor_lu@fcrisk.ru; (342)2368098

Head of Department of occupational medicine and occupational pathology
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies". 82, Monastyrskaya str., Perm, Russia, 614045

Kleyn Svetlana Vladislavovna, assistant of professor of the Department of human ecology and life safety
Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; kleyn@fcrisk.ru; (342)2371804

Head of Department of social hygienic monitoring
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies". 82, Monastyrskaya str., Perm, Russia, 614045