

УДК 629.782.519.711

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА НА СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИН ФЕРТИЛЬНОГО ВОЗРАСТА

© 2014 М.А. Землянова, В.Б. Алексеев, С.Г. Щербина

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления
рисками здоровью населения, г. Пермь

Поступила в редакцию 03.10.2014

В работе представлены результаты углубленного обследования женщин, имеющих в анамнезе врожденные пороки развития плода и подвергающихся экспозиции химических репротоксикантов. Показано, что в условиях хронической экспозиции, обусловленной неудовлетворительным качеством атмосферного воздуха и воды по содержанию свинца, хрома, никеля, марганца, бензола, ксилола, толуола, этилбензола, формальдегида, содержание в крови экспонированных женщин данных веществ до 2,5 раз превышает показатели группы сравнения. Установлена повышенная до 2,3 раза частота регистрации полиморфизма хромосом, до 11,6 раза частота повышения показателя 8-OHdG в моче (маркера окислительного стресса на уровне ДНК) у экспонируемой группы женщин относительно группы сравнения. Доказаны причинно-следственные связи врожденных пороков развития, хромосомного дисбаланса, окислительного повреждения ДНК с дозой экспозиции и концентрацией репротоксикантов в крови. Даны рекомендации профилактических мероприятий с учетом доказанности негативного воздействия репротоксикантов.

Ключевые слова: *репродуктивное здоровье, женщина, фертильный возраст, репротоксиканты, полиморфизм, хромосома, врожденные пороки развития, причинно-следственные связи*

Современные исследователи как в России, так и за рубежом среди факторов риска репродуктивных потерь, наряду с неуправляемыми, придают существенное значение химическим факторам техногенного происхождения, обладающим репротоксикантной, тератогенной и мутагенной активностью, проникающим трансплацентарно [1, 2]. Известно более чем 600 химических веществ, способных проникать от матери к плоду через плаценту и в той или иной степени отрицательно влиять на его развитие, вызывая изменения в хромосомах, что увеличивает риск появления врожденных дефектов [3-5]. По мнению экспертов ВОЗ и практика последних лет свидетельствуют, что при популяционной оценке ситуации именно уровень врожденных пороков развития (ВПР), наряду с показателями внутриутробной смертности, следует использовать в качестве основного критерия оценки влияния загрязнения факторов среды

оценки влияния загрязнения факторов среды обитания [6]. Значение этого показателя особенно возрастает, если учесть, что ВПР занимают ведущее место в структуре младенческой смертности, где пороки сердца являются одной из первостепенных причин [7].

Цель работы: анализ управляемых факторов риска развития врожденных пороков развития плода у женщин фертильного возраста в промышленных регионах России, включающий цитогенетическую индикацию мутагенного эффекта, установление маркеров аномальных реакций, маркерных профилей хромосомных нарушений в условиях внешнесредового воздействия репротоксикантов, что особенно актуально для задач обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения [8, 9].

Методика исследования. Качественная и количественная оценка содержания химических репротоксикантов в атмосферном воздухе и воде источников питьевого водоснабжения выполнена по данным мониторинговых и натурных наблюдений Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю, ГУ «Пермский ЦГМС» (за период 2009-2013 гг.). Оценка экспозиции выполнена для 13 приоритетных веществ (по результатам оценки потенциальной канцерогенной и неканцерогенной опасности – свинец, хром, никель, марганец, медь, бензол, ксилол, толуол,

Землянова Марина Александровна, доктор медицинских наук, заведующая отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики. E-mail: zem@fcrisk.ru

Алексеев Вадим Борисович, доктор медицинских наук, заместитель директора по организационно-методической работе. E-mail: vadim@fcrisk.ru

Щербина Светлана Геннадьевна, заведующая лабораторией цитогенетики E-mail: sherbina@fcrisk.ru

этилбензол, фенол, тетрахлорэтилен, формальдегид) на основании расчета суммарной среднесуточной дозы, коэффициента и индекса опасности (HQ и HI) при различных путях поступления загрязнений в организм [10].

Для углубленного исследования влияния факторов риска на состояние репродуктивного здоровья была сформирована группа наблюдения женщин (n=50), имеющих в анамнезе ВПР плода (2009-2011 гг.) и подвергающихся экспозиции химических репротоксикантов. В группу сравнения вошли женщины (n=32) аналогичного возраста, социального статуса, имеющие в анамнезе благоприятно завершившуюся беременность и проживающие в условиях отсутствия экспозиции репротоксикантов. Углубленное обследование включало детальное клинико-анамнестическое, цитогенетическое исследование (кариотипирование), химико-аналитическое исследование крови на содержание металлов (свинца, марганца, хрома, никеля, цинка), органических соединений (бензола, толуола, этилбензола, формальдегида). Химико-аналитические исследования проведены методом хромато-масс-спектрометрии и газовой хроматографии в соответствии с методическими указаниями МУК 4.1.777-99, 4.1.2106-06, 4.1.765-99 на атомно-абсорбционном спектрофотометре Agilent 7500cx и газовом хроматографе Кристалл 500. Кариотипирование выполнено стандартным цитогенетическим методом с визуализацией препаратов микроскопированием при увеличении 1125 с использованием системы «Видео-Тест-Карио» версия 3.0. Результаты оценивали в соответствии с правилами Международной номенклатуры хромосом ISCN-2005. Оценка окислительного повреждения ДНК клеток выполнена по уровню 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-OHdG) в моче иммуноферментным методом на автоматическом анализаторе Infinite F50 Tecan с использованием наборов Assay Designs' DNA Damage ELISA (США).

Математическое моделирование зависимости неблагоприятного ответа от дозы внешне-средовой экспозиции осуществляли с помощью модели нелинейной логистической регрессии. Адекватность моделей оценивали по критерию Фишера с 95% уровнем достоверности и коэффициенту детерминации. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием двухвыборочного критерия Стьюдента. Вероятность отклонения параметров от физиологической нормы при воздействии неблагоприятных факторов определяли по расчету отношения шансов (OR) [11].

Результаты исследования. Установлено, что на селитебных территориях крупного промышленного региона (доля химической и нефтеперерабатывающей отраслей в структуре производства достигает 27%) отмечается потенциальная опасность воздействия ряда загрязнений атмосферного воздуха и питьевой воды на репродуктивное здоровье населения. Опасность обусловлена неудовлетворительным качеством атмосферного воздуха на территории жилой застройки, формируемого исследуемыми загрязнениями. Установлены зоны с превышением гигиенических нормативов по свинцу, марганцу, никелю, хрому шестивалентному и их соединениям (до 1,2-1,4 ПДК_{с.с.}), бенз(а)пирену (до 5,0 ПДК_{с.с.}), фенолу (до 9,2 ПДК_{с.с.}), формальдегиду (до 13,5 ПДК_{с.с.}), бензолу, ксилолу, этилбензолу, толуолу (до 1,5 ПДК_{с.с.}). Оценка качества питьевой воды в распределительной сети централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения населения из поверхностных водоисточников (река Кама, Чусовая), выявила 47,4% нестандартных проб по санитарно-химическим показателям. Установлено превышение нормативов по трихлорметану в 37,9% проб от общего количества проанализированных проб (до 0,36 мг/дм³ при норме 0,2), остаточному хлору – 1,3% (до 1,8 мг/дм³ при норме 0,8-1,2), железу – 14,3% (до 0,55 мг/дм³ при норме 0,3), марганцу – 5,9% (до 0,22 мг/дм³ при норме 0,1). Кроме того, в концентрациях до 0,7 ПДК регистрировалось присутствие металлов (марганца, молибдена, никеля, мышьяка) и хлорированных углеводородов (дихлорметана, хлороформа, четыреххлористого углерода, трихлорэтилена).

Хроническая экспозиция характеризуется комплексным поступлением в организм (с атмосферным воздухом и питьевой водой) семи анализируемых приоритетных веществ (меди, марганца, никеля, свинца, хрома, фенола, формальдегида) и составила от $1,17 \cdot 10^{-5}$ до $1,02 \cdot 10^{-3}$ мг/(кг·день). При этом, преимущественным является ингаляционный путь поступления (долевой вклад в суммарную суточную дозу составляет 99,8%). В зонах экспозиции проживает 260 тыс. женщин фертильного возраста, в том числе 35 тыс. беременных. Оценка опасности развития заболеваний органов репродуктивной сферы показала, что в зонах экспозиции коэффициенты опасности хронического ингаляционного воздействия (HQ>1) выше приемлемого уровня формируют формальдегид (до 6,3), медь (до 4,5), никель, бенз(а)пирен (до 1,5), марганец и его соединения (до 1,1). В точках адресной территориальной привязки мест проживания взрослого населения суммарный индекс опасности для

органов репродуктивной сферы более чем в 16,5 раз превышает допустимый уровень.

У женщин с ВПР плода, проживающих в условиях хронической экспозиции репротоксикантов, выявлено превышение в крови в 1,5-2,5 раза референтных значений марганца, хрома,

никеля, свинца, формальдегида [12]; идентифицирован бензол, не установленный в группе сравнения ($p=0,000-0,002$) (см. табл. 1). Эффективность плацентарного барьера в отношении свинца, толуола, бензола, формальдегида составляет от 58 до 83%.

Таблица 1. Результаты углубленного обследования женщин фертильного возраста, имеющих в анамнезе ВПР плода

Фактор экспозиции	Группа наблюдения (n=50)	Группа сравнения (n=35)	Достоверность различий между группами ($p \leq 0,05$)
содержание репротоксикантов в крови, мг/дм ³			
марганец	0,021±0,003	0,014±0,002	0,000
никель	0,170±0,013	0,123±0,015	0,000
хром	0,016±0,003	0,012±0,002	0,002
свинец	0,126±0,009	0,079±0,012	0,001
бензол	0,002±0,002	0,000±0,001	0,000
формальдегид	0,007±0,002	0,003±0,001	0,000
варианты нормального полиморфизма хромосом			
полиморфизм акроцентрических хромосом	46,XX, 22ps+[14] 46,XX, 13ps+[11] 46,XX, 15ps+[11] 46,XX, 14pss[12]	46,XX, 15ps+[11] 46, XX, 22ps+[12]	0,000
полиморфизм гетерохроматиновых сегментов хромосом	46,XX, 1qh+[11] 46,XX, 16qh+[11]	46,XX, 1qh+[13] 46,XX, 9qh+[12]	0,000
полиморфизм двух хромосом	46,XX, 14ps+, 22ps+ [11] 46,XX, 13ps+, 21ps+ [12] 46,XX, 13ps+, 22ps+ [12]	не обнаружен	0,000
Содержание маркера окислительного стресса, мкмоль/см ³			
8-OHdG в моче	524,26±96,4	173,61±66,16	0,000

При цитогенетической идентификации хромосомных нарушений установленная частота встречаемости полиморфизма хромосом у экспонируемой группы женщин в 11,6 раза превышала данный показатель в группе сравнения. При этом обращает на себя внимание вариативность изменения хромосом: от изменения одной хромосомы (увеличение спутников, удвоенные спутники в акроцентрических хромосомах, увеличение гетерохроматиновых участков в метацентрических и субметацентрических хромосомах) до полиморфных изменений одновременно двух хромосом. У женщин, проживающих в условиях отсутствия экспозиции, полиморфизм двух хромосом не идентифицирован. Вероятность рождения ребенка с хромосомным дисбалансом – маркером риска реализации, так называемой эволюционной токсичности, у экспонированных женщин в 17,4 раз выше данного показателя у женщин группы сравнения (по расчету отношению шансов).

Количественное определение уровня 8-OHdG в моче, как маркера окислительного повреждения ДНК на клеточном уровне, показало повышенное содержание данного показателя у

50% женщин группы наблюдения и у 22,6% женщин группы сравнения относительно физиологического уровня ($p < 0,05$). При этом в группе наблюдения в 12% случаев повышенное содержание в моче 8-OHdG определялось наряду с нормальным полиморфизмом. В группе сравнения такого патологического сочетания не обнаружено.

Результаты математического моделирования зависимости вероятности неблагоприятного ответа от дозы внешнесредовой экспозиции у женщин показали достоверную связь ($R^2=0,1-0,72$, $p < 0,05$) дозы марганца, никеля, хрома, этилбензола, бензола, толуола с показателями вероятности ВПР, бесплодия, полиморфизма хромосом. В результате анализа экспоненциальных зависимостей между концентрацией в крови марганца, никеля, свинца хрома, бензола, формальдегида и негативным ответом со стороны женской репродуктивной системы параметризованы достоверные причинно-следственные связи, характеризующие вероятность развития ВПР ($R^2=0,38-0,9$), хромосомного дисбаланса ($R^2=0,14-0,75$), окислительного повреждения ДНК ($R^2=0,30-0,86$), бесплодия при повышении

концентраций марганца, никеля, свинца, хрома, бензола и формальдегида в крови.

Таким образом, в результате углубленных исследований женщин, имеющих в анамнезе ВПР плода и подвергающихся экспозиции химических репротоксикантов, установлено, что в условиях хронической экспозиции, обусловленной неудовлетворительным качеством атмосферного воздуха и воды по содержанию свинца, хрома, никеля, марганца, бензола, ксилола, толуола, этилбензола, формальдегида, содержание в крови экспонированных женщин данных веществ до 2,5 раз превышает показатели группы сравнения. У экспонируемых женщин установлена повышенная до 11,6 раза частота регистрации полиморфизма хромосом и до 2,3 раза – частота повышения показателя окислительного стресса на уровне ДНК относительно группы сравнения. Доказаны причинно-следственные связи ВПР, бесплодия, хромосомного дисбаланса, окислительного повреждения ДНК с дозой экспозиции и концентрацией репротоксикантов в крови.

Доказанное негативное воздействие репротоксичных химических веществ на репродуктивное здоровье женщин в условиях хронической экспозиции позволили обосновать рекомендации по снижению рисков ВПР при формировании программ периконцепционной профилактики, реализуемых в практическом здравоохранении в системе амбулаторно-поликлинической помощи. Периконцепционная профилактика с учетом доказанности негативного воздействия репротоксикантов должна быть направлена на общее оздоровление, ускорение связывания и элиминацию ксенобиотиков, достижение референтного уровня эссенциальных микроэлементов в крови:

– санация хронических очагов инфекции и профилактическое лечение витаминами, микроэлементами (фолиевая кислота до 3 мг в сутки и йодистый калий в дозе 200 мг) за 3-4 месяца до до планирования беременности;

– раннее выявление и взятие на диспансерный учет беременных с наличием факторов риска;

– определение у женщин группы риска, кроме скрининговых исследований, предусмотренных приказом МЗ РФ № 457, 8-гидрокси-2-оксигуанолина в моче, и при условии повышения его уровня - генетическое консультирование, по показаниям кариотипирование, химико-аналитическое исследование крови на репротоксиканты, полное клиническое обследование, выявление очагов хронической инфекции;

– при наличии повышенного уровня репротоксикантов в крови и под контролем его уровня в критические сроки беременности рекомендуется курс превентивной терапии, включающий

энтеросорбенты (3 курса энтеросорбентов (карбактин, полифепам) и гепатопротекторов (хофитол) продолжительностью не менее 14 дней в сроках 8-10 недель, 20-24 недели, 34-36 недель беременности), адаптогены (2 курса (витагмал) продолжительностью не менее 14 дней в сроках 8-10 недель и 20-24 недели беременности, по 15 капель на 1 стакан воды, утром), поливитамины.

Для повышения эффективности периконцепционной профилактики должна внедряться концепция индивидуальной профилактики рисков нарушения репродуктивного здоровья у женщин, предусматривающая динамическое наблюдение всех возрастных групп женщин, начиная с предпубертатного периода и до окончания фертильного периода. Алгоритмы догестационного и пренатального мониторинга на территориях риска должны включать химико-аналитическое исследование крови на содержание репротоксикантов и соответствующих им клинико-лабораторных маркеров, в том числе контроль уровня оксидативных аддуктов ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Профессиональная патология: национальное руководство / Под ред. Н.Ф. Измерова. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2011. – 784 с.
2. Зайцева, Н.В. Цитогенетические маркеры и гигиенические критерии оценки хромосомных нарушений у населения и работников в условиях воздействия химических факторов с мутагенной активностью (на примере металлов, ароматических углеводородов, формальдегида) / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.Б. Алексеев, С.Г. Щербина. – Пермь: Книжный формат, 2013. 226 с.
3. Ушакова, Г.А. Регуляторные и адаптационные процессы в системе мать-плацента-плод при гестозе различной степени тяжести / Г.А. Ушакова, Ю.В. Рец // Акушерство и гинекология. 008. № 4. С. 11-16.
4. Correa-Villaseanor, A. Cardiovascular malformation and prenatal environmental exposures / A. Correa-Villaseanor, P.D. Wilson, C. Loffredo et al. // *Pediatr. Res.* 1991. V. 29(4 Pt 2). P. 17A.
5. Dimich-Ward, H. Reproductive effects of paternal exposure to chlorophenolate wood preservatives in the sawmill industry / H. Dimich-Ward, C. Hertzman, K. Teschke et al. // *Scand. J. Work Environ. Health.* 1996. V. 22(4). P. 267-273.
6. Принципы оценки риска для потомства в связи с воздействием химических веществ в период беременности: ВОЗ. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. – Женева, 1988. Вып. 30.
7. Демикова, Н.С. Эпидемиологический мониторинг врожденных пороков развития в Российской Федерации / Н.С. Демикова, Б.А. Кобринский // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2012. № 4(1). С. 152-154.
8. Землянова, М.А. Анализ взаимосвязей токсикантного профиля биосред и изменений кариотипа у женщин с врожденными дефектами развития плода / М.А. Землянова, В.Б. Алексеев, М.М. Падруль и др.

- // Пермский медицинский журнал, 2011. № 3. С.118-123.
9. Зайцева, Н.В. Комплексные вопросы управления риском здоровью в решении задач обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия на муниципальном уровне / Н.В. Зайцева, П.З. Шур, И.В. Май и др. // Гигиена и санитария. 2007. № 5. С. 16-18.
10. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания. Р.2.1.10.1920-04. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора России, 2004. 143 с.
11. Флетчер, Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. – М.: Медиа Сфера, 1998. 352 с.

RESEARCH THE INFLUENCE OF CHEMICAL FACTORS RISK ON THE REPRODUCTIVE HEALTH STATE AT FERTILE AGE WOMEN

© 2014 M.A. Zemlyanova, V.B. Alekseev, S.G. Shcherbina

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk
Management Technologies

In work results of profound inspection of women having fetus congenital defects in the anamnesis and who are exposed by chemical reprotoxicants are presented. It is shown that in the conditions of chronic exposition caused by unsatisfactory quality of atmospheric air and water according to the content of lead, chrome, nickel, manganese, benzene, xylene, toluene, ethyl benzene, formaldehyde, the content in blood of exhibited women of these substances to 2,5 times exceeds the indicators of comparison group. The frequency of registration the chromosomes polymorphism increased to 2,3 times, to 11,6 times the frequency of increase the indicator 8-OHdG in urine (a marker of oxidizing stress at the level of DNA) at the exhibited group of women concerning group of comparison is established. Relationships of cause and effect of congenital defects, chromosomal imbalance, oxidizing damage of DNA with a dose of exposition and concentration of reprotoxicants in blood are proved. Recommendations of preventive actions taking into account validity of negative impact of reprotoxicants are made.

Key words: *reproductive health, woman, fertile age, reprotoxicant, polymorphism, chromosome, congenital defects, relationships of cause and effect*

Marina Zemlyanova, Doctor of Medicine, Chief of the Biochemical and Cytogenetic Diagnostics Methods Department. E-mail:

zem@fcrisk.ru

Vadim Alekseev, Doctor of Medicine, Deputy Director on Organizational and Methodical Work. E-mail: *vadim@fcrisk.ru*

Svetlana Shcherbina, Chief of the Cytogenetics Laboratory. E-mail: *sherbina@fcrisk.ru*