

Федеральная служба по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека  
Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения  
«Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора

---

---

# ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ И СРЕДА ОБИТАНИЯ

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ БЮЛЛЕТЕНЬ  
Основан в 1993 г.

№1 (274)

**2016**

Главный редактор  
**А.Ю. ПОПОВА**

Заместитель главного редактора  
**С.В. СЕЛЮНИНА**

Ответственный секретарь  
**Н.А. ГОРБАЧЕВА**

---

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

В.Г. АКИМКИН	Н.Ф. ИЗМЕРОВ
Е.Н. БЕЛЯЕВ	В.Р. КУЧМА
В.М. БОЕВ	Г.И. МАХОТИН
А.М. БОЛЬШАКОВ	А.В. МЕЛЬЦЕР
Н.И. БРИКО	Л.В. ПРОКОПЕНКО
Н.В. ЗАЙЦЕВА	Ю.А. РАХМАНИН
А.В. ИВАНЕНКО	Н.В. РУСАКОВ
В.А. ТУТЕЛЬЯН	

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

**ВОПРОСЫ УПРАВЛЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ГИГИЕНЫ**

*Бегун Д.Н.* Заболеваемость с временной утратой трудоспособности при ревматических болезнях в Оренбургской области . . . . . 4

*Begun D.N.* Population morbidity with temporary disability in rheumatic diseases in the Orenburg region. . . . . 4

**КОММУНАЛЬНАЯ ГИГИЕНА**

*Росоловский А.П.* Состояние источников центрального водоснабжения и влияние качества питьевой воды на здоровье населения Новгородской области . . . . . 8

*Rosolovsky A.P.* The state of sources of centralized water supply and the impact of drinking water quality on population health of the Novgorod region . . . . . 8

*Боев В.М., Карпенко И.Л., Бархатова Л.А., Кудусова Л.Х., Зеленина Л.В.* Мониторинг аэрогенной химической нагрузки на селитебных территориях промышленного города. . . . . 11

*Boev V.M., Karpenko I.L., Barkhatova L.A., Kudusova L.Kh., Zelenina L.V.* Monitoring of aerogenic chemical loading on the inhabited territories of the industrial city . . . . . 11

**ГИГИЕНА ТРУДА**

*Тимашева Г.В., Бакиров А.Б., Валева Э.Т., Репина Э.Ф.* Лабораторные биомаркеры в диагностике состояния здоровья работников, подвергающихся воздействию химических факторов . . . . . 14

*Timasheva G.V., Bakirov A.B., Valeyeva E.T., Repina E.F.* Laboratory biomarkers in the diagnosis of workers health of exposed to chemical factors. . . . . 14

**ГИГИЕНА ПИТАНИЯ**

*Литвинова О.С.* К вопросу совершенствования контроля за содержанием остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах . . . . . 18

*Litvinova O.S.* To the issue of improving of the control of pesticides residues in foods . . . . . 18

**ГИГИЕНА ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ**

*Гречкина Л.И.* Донозологическая характеристика показателей гемодинамики у мальчиков – уроженцев г. Магадана с разным типом саморегуляции кровообращения . . . . 22

*Grechkina L.I.* The prenosological characteristics of hemodynamic parameters demonstrated by male adolescents, born in the city of Magadan, having different types of self-regulation of the blood circulation . . . . . 22

*Ташешкина Н.В., Егоренко Т.Г.* Результаты гигиенической оценки школьных завтраков . . . . . 27

*Tapeshkina N.V., Egorenko T.G.* The results of hygienic assessment of school lunches. . . . . 27

**РАДИАЦИОННАЯ ГИГИЕНА**

*Долгих О.В., Зайцева Н.В., Кривоцов А.В., Бубнова О.А.* Спонтанная и индуцированная стронцием экспрессия гена дефензина. . . . . 31

*Dolgikh O.V., Zaitseva N.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A.* Spontaneous and strontium induced gene defensin expression . . . . . 31

**ЭПИДЕМИОЛОГИЯ**

*Асланова М.М., Кузнецова К.Ю., Морозов Е.Н.* Эффективная лабораторная диагностика – основа мониторинга паразитарных болезней. . . . . 34

*Aslanova M.M., Kuznetsova K.Yu., Morozov E.N.* Effective laboratory testing is a basis of monitoring parasitic diseases . . . . . 34

*Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А.* Эпизоотологический мониторинг природно-очаговых инфекций в Южном, Северо-Кавказском и Крымском федеральных округах в 2014 году. . . . . 38

*Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Manin E.A.* The epizootological monitoring natural-focal infections in the Southern, North-Caucasian and Crimean federal districts in 2014 . . . . . 38

*Титова С.В., Кругликов В.Д., Алексеева Л.П., Шчипелева И.А., Марковская Е.И.* Вклад Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института в стратегию стран Шанхайской организации сотрудничества по защите населения от угрозы инфекционных болезней . . . . . 42

*Titova S.V., Kruglikov V.D., Alekseeva L.P., Shchipeleva I.A., Markovskaya E.I.* The contribution of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute into the strategy of the Shanghai cooperation organization member countries on population protection against infectious disease threat . . 42

УДК 613.64:616.717-057

СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ СТРОНЦИЕМ  
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ДЕФЕНЗИНАО.В. Долгих<sup>1, 2, 3</sup>, Н.В. Зайцева<sup>1, 2, 3</sup>, А.В. Кривцов<sup>1</sup>, О.А. Бубнова<sup>1, 2</sup><sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия<sup>3</sup>ГОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь, Россия

*Проведены исследования по выявлению модифицированной стронцием экспрессии иммуностропного гена DEF (дефензина). Разработаны методические подходы к оценке индуцированной гаптенами экспрессии кандидатных иммуностропных генов, которая обеспечивает возможность идентификации генетических и прогнозирования иммунных нарушений, ассоциированных с воздействием средовых химических факторов. Разработанный методический алгоритм включает в себя: выделение специфических клеточных фенотипов, являющихся мишенью поступающих в организм мутагенов (стронция); проведение оценки модифицирующего влияния стронция на процесс экспрессии иммуностропных генов как спонтанной, так и индуцированной искусственно вводимой разрешающей дозой токсиканта. Определен оптимальный диапазон величин индекса экспрессии гена дефензина в условиях экспозиции стронцием.*

**Ключевые слова:** стронций, экспрессия генов, дефензин.

*O.V. Dolgikh, N.V. Zaitseva, A.V. Krivtsov, O.A. Bubnova* □ SPONTANEOUS AND STRONTIUM INDUCED GENE DEFENSIN EXPRESSION □ Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia; Perm State National Research University, Perm, Russia; Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia.

*The researches on the detection of strontium modified immunotropic gene DEF (defensin) expression have been performed. The methodical approaches have been developed to evaluate hapten induced candidate immunotropic gene expression that provides identification of gene disorders and forecasting the immune disorders associated with the environmental chemicals. The developed methodical algorithm includes: the identification of specific cell phenotypes that are target for mutagens (strontium) entering into organism; the evaluation of the strontium modificative effect on immunotropic gene (defensin) expression as spontaneous and also artificially induced anaphylaxis-provoking dose of toxicant. The optimal index diapason for the gene (defensin) expression under the strontium exposition was defined.*

**Key words:** strontium, gene expression, defensin.

На сегодняшний день отсутствуют методологии и способы оценки генетических и иммунных нарушений, ассоциированных со средовым воздействием токсикантов, когда в качестве маркеров чувствительности выступают показатели и соответствующие им критерии, характеризующие модифицированную воздействием мутагена экспрессию патогномоничных генов. В связи с этим особую актуальность представляют исследования по изучению геномодифицирующего действия ксеногенных химических соединений транскриптом на процесс экспрессии кандидатных генов для задач установления причинно-следственных связей между факторами среды обитания и здоровьем населения [1–7].

**Цель исследования** – разработка методологии и оценка спонтанной и индуцированной стронцием экспрессии иммуностропных генов на примере дефензина.

**Материалы и методы.** Выполнено диагностическое генетическое обследование двух групп взрослого населения (51 человек) на территории стронциевой геохимической провинции и вне ее, которые имели различную степень контаминации

биосред стронцием. Группы были однородны по возрасту, соматической заболеваемости, этнической принадлежности.

Определение стронция в биосредах осуществляли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Исследования по оценке специфической экспрессии генов проводили на основании методических рекомендаций «Определение генетической экспрессии, отражающей воздействие химических факторов среды», разработанных Федеральным научным центром медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения и утвержденными Управлением Роспотребнадзора по Пермскому краю.

Анализируемым биосубстратом для генетических исследований являлись лимфоциты. Методом иммуномагнитной сепарации на сортере autoMACS Pro выделялись (сепарировались) иммунокомпетентные клетки кластеров CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, экспрессирующие дефензин.

Выбор дефензина в качестве кандидатного гена основывался на его роли как регуляторного иммуностропного гена. Дефензин является не только

**Таблица. Характеристика индекса экспрессии гена дефензина альфа у пациентов с уровнем содержания стронция в крови, превышающим региональный фоновый ( $0,024 \pm 0,007$  мг/дм<sup>3</sup>) в 1,5 раза и более**

Возраст пациента	Экспрессия			Содержание CD8 <sup>+</sup> , %	Концентрация стронция в крови, мкг/мл
	спонтанная	индуцированная стронцием	индекс экспрессии*		
47	0,0093	0,422	45,4	40	0,121
45	0,0174	0,291	16,7	38	0,124
49	0,0622	0,2349	3,8	35	0,123
46	0,0104	0,007	0,67	17	0,0605
49	0,603	0,359	0,60	14	0,0862
41	0,1285	0,085	0,66	21	0,0553
Норма			0,7—3,0	28±4, 7	0,024±0,007

\* Значения индексов экспрессии достоверно отличались от аналогичных данных в группе пациентов с уровнем содержания стронция в крови ниже фонового ( $p < 0,05$ )

хемотаксическим фактором, но и связывающим пептидом для факторов главного комплекса гистосовместимости. Минорность его экспрессии иммунокомпетентными клетками делает использование дефензина оптимальным в идентификации особенностей транскриптомного процессинга. В качестве эндогенного внутреннего контроля, относительно которого проводили нормализацию продуктов амплификации исследуемых генов, были выбраны гены GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и бета-актин.

ПЦР с праймерами к генам дефензина (DEF), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH), бета-актина проводили в реакционной смеси с конечным объемом 50 мкл. Для амплификации к ДНК использовали последовательности специфических праймеров для бета-актина, GAPDH.

Праймеры были подобраны на основе зонда TaqMan для мультиплексной ПЦР. Уровень флуоресценции оценивали в режиме реального времени на детектирующем амплификаторе CFX-96. Расчет уровня относительной экспрессии проводили на программном обеспечении CFX Manager.

Статистический анализ проводили с использованием программ Statistica v7.1. Для обнаружения различий между группами применяли непараметрический критерий Манна-Уитни (U-тест). Для оценки связи между экспрессиями анализируемого гена рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмана. Статистически достоверными различия принимали при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** В результате проведенных исследований разработана методика

изучения индуцированной экспрессии, включающей в себя последовательность стандартных и дополнительных процедур.

На первом этапе проводили сортировку (выделение) из цельной крови субпопуляции клеток лимфоцитов с маркером-мишенью методом иммуномагнитной сепарации на клеточном сортере и осуществляли их идентификацию методом проточной цитофлуориметрии на цитометре. Чистота выделенных клеток была подтверждена методом проточной цитофлуориметрии и составила более 90 %. Устанавливали и стандартизовали содержание клеток-мишеней в пробе крови.

На втором этапе осуществлялась индуцированная экспрессия кандидатного гена, которая вызывалась пороговой концентрацией токсиканта (10 мг/л).

На третьем этапе проводили стандартные процедуры изучения экспрессии: выделение общей РНК; обратную транскрипцию мРНК в кДНК; амплификацию кДНК с подготовленными праймерами и зондами; расчет относительной экспрессии маркерного гена и ее статистический анализ.

Состояние специфической индуцибельности гена оценивали по величине и направлению изменчивости экспрессии дефензина, вызванной экспозицией стронцием *ex vivo*, по отношению к спонтанной экспрессии с учетом его базовой экспозиции (содержание стронция в крови). Рассчитали индекс экспрессии, который равен отношению индуцированной экспрессии к спонтанной, по которому судили о наличии иммуногенетических нарушений у пациента, связанных с воздействием мутагена (за спонтанную

экспрессию принимают уровень, относящийся к контрольной пробе, а за индуцированную экспрессию – уровень, относящийся к пробе, в которую введен мутаген).

Данные, полученные в ходе испытаний, приведены в таблице 1.

В таблице приведены значения индекса экспрессии гена дефензина альфа для пациентов, проживающих на территории стронциевой геохимической провинции, в крови которых концентрация стронция превышала региональный фоновый показатель более чем в 1,5 раза. Причем приведенные значения спонтанной и индуцированной экспрессии и предлагаемого индекса достоверно отличались от аналогичных данных в группе пациентов, проживающих на территории вне экспозиции стронцием ( $p < 0,05$ ).

Данные, полученные у пациентов с высоким уровнем стронция в крови в биопробах, показали либо повышение индекса экспрессии гена дефензина альфа после инкубации со стронцием более 3, либо его снижение в аналогичных биопробах менее 0,7.

Кроме того, у пациентов с высоким уровнем стронция в крови и повышенным уровнем экспрессии дефензина альфа CD8<sup>+</sup> клетками было повышено содержание CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови, в то время как у пациентов с высоким уровнем стронция и сниженным уровнем экспрессии дефензима CD8<sup>+</sup> клетками наблюдалось снижение содержания CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови, что указывает на наличие и направленность иммунных нарушений у этих пациентов.

Таким образом, при индексе меньше 0,7 у пациентов диагностировали угнетение экспрессии, а при индексе более 3 – увеличение экспрессии с развитием либо иммунодефицитного, либо иммуноагрессивного состояния при условии одновременного обнаружения превышения содержания стронция в крови более чем в 1,5 раза по сравнению с фоновым.

**Выводы.** Результаты исследования выявили, что чем выше обусловленное средовым (с питьевой водой) поступлением содержание мутагена над референтной концентрацией, тем значительнее его модифицирующее действие на процесс экспрессии защитных белков.

Таким образом, внесение фиксированной пороговой концентрации токсиканта *ex vivo* позволяет выявить модифицирующее влияние адресной индукции стронцием на генетический аппарат клетки. То есть имеющаяся хроническая экспозиция токсиканта формирует мутагенный

(эпигеномный) эффект, который реализуется в условиях поступления разрешающего количества негативного фактора.

Разработанные методические подходы предназначены для ранней диагностики формирования генетически опосредованных нарушений здоровья у лиц, проживающих в условиях воздействия стронция.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Долгих О.В. и др. Гены и медиаторы как маркеры нарушений иммунного ответа у детей в условиях контаминации биосред тяжелыми металлами / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. 2014. № 12 (261). С. 27–29.
2. Долгих О.В. и др. Иммунная система и ее генетические ассоциации у детей при комбинированном внешнесредовом воздействии / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева [и др.] // Вестник КазНМУ. 2014. № 3 (1). С. 60–63.
3. Долгих О.В. и др. Характеристика генотипов детей и взрослых, проживающих в условиях воздействия химических факторов риска / О.В. Долгих, А.В. Кривцов [и др.] // Анализ риска здоровью. 2015. № 1. С. 55–59.
4. Долгих О.В. и др. Экспериментальная оценка влияния фенолов на иммунорегуляцию *ex vivo* / О.В. Долгих, Р.А. Предеина [и др.] // Анализ риска здоровью. 2014. № 1. С. 73–81.
5. Зайцева Н.В. и др. Особенности клеточного звена иммунитета у детей в условиях внешнесредовой экспозиции толуолом, формальдегидом, фенолом / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2012. Т. 14. № 5 (2). С. 341–343.
6. Рахманин Ю.А. и др. Современные научные проблемы совершенствования методологии оценки риска здоровью населения / Ю.А. Рахманин, С.М. Новиков [и др.] // Гигиена и санитария. 2005. № 2. С. 3–8.
7. Трифонова Е.А. и др. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией / Е.А. Трифонова, Т.В. Габидулина [и др.] // Acta nature. 2014. Т. 6. № 2 (21). С. 77–90 [русскояз. версия].

### Контактная информация:

Долгих Олег Владимирович,  
тел.: +7 (342) 236-39-30,  
e-mail: oleg@fcrisk.ru

### Contact information:

Dolgikh Oleg,  
phone: +7 (342) 236-39-30,  
e-mail: oleg@fcrisk.ru

