

УДК 613.15:[574.24+616-092.12]

Т.И. Виткина¹, В.И. Янькова¹, Т.А. Гвозденко¹, Ю.К. Денисенко¹, К.С. Голохваст^{1,2}

ФОРМИРОВАНИЕ ОКСИДАТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРОЧАСТИЦ АТМОСФЕРНЫХ ВЗВЕСЕЙ У НАСЕЛЕНИЯ Г. ВЛАДИВОСТОКА

¹ Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, Россия

² ФГАОУ «Дальневосточный федеральный университет» Минобрнауки РФ, Владивосток, Россия

Изучено влияние микрочастиц атмосферного воздуха на развитие окислительного стресса у здоровых жителей города. Исследованы содержание и состав микрочастиц в атмосферном воздухе г. Владивостока; ключевые параметры окислительного стресса. Формирование окислительного стресса, индуцированного микрочастицами, вызывает повреждение макромолекул и снижение энергетического статуса клеток. Компенсаторное повышение антиоксидантной активности, осуществляемое за счет тиолдисульфидного звена, обуславливает защиту клеток от апоптоза.

Ключевые слова: микрочастицы атмосферного воздуха, здоровые жители урбанизированной территории, окислительный стресс, тиолдисульфидное звено

THE FORMATION OF OXIDATIVE DISORDERS IN THE POPULATION OF VLADIVOSTOK UNDER THE INFLUENCE OF ATMOSPHERIC MICROPARTICLES

T.I. Vitkina¹, V.I. Yankova¹, T.A. Gvozdenko¹, Y.K. Denisenko¹, K.S. Golokhvast^{1,2}

¹ Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok, Russia

² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

We studied the response of trigger systems in healthy volunteers living in areas with different levels of air pollution. We determined that particles with the size of 800 microns and higher of relatively favorable region, particles with the size of less than 50 microns dominated in the air of the unfavorable area, among which there were the most hazardous to health amounts of microparticles – from 200 to 300 nm. Microparticles of unfavorable area causes the development of oxidative modifications of proteins and DNA contributing to the change of leukocyte potential energy. The increase in total antioxidant activity and response of thiol-disulfide system (the increase in thioredoxin, glutathione with a stable reductase level) maintains a balance of oxidation and antioxidant processes contributing to protection of the cellular and subcellular structures against considerable oxidative damage.

Key words: microparticles of atmospheric air, healthy people of the urbanized territory, oxidative stress, thiol-disulfide system

Воздух в городах является одним из основных маркеров загрязнения среды [1, 5]. Наибольшую опасность для здоровья представляют микроразмерные частицы (МЧ) атмосферных взвесей. Показано, что длительное воздействие повышенных концентраций в атмосферном воздухе микродисперсных частиц диаметром от 0,1 до 2,5 мкм (PM_{2,5}) сокращает продолжительность жизни в популяции на несколько лет. Основным механизмом токсического действия МЧ является их способность индуцировать выработку активных форм кислорода (АФК), способствующих развитию окислительного стресса [3]. К одному из универсальных внутриклеточных звеньев, опосредующих регуляторные функции АФК, можно отнести редокс-системы глутатиона и тиоредоксина (TRX). TRX-система, модулируя активность факторов транскрипции и участвуя в регуляции экспрессии провоспалительных цитокинов и апоптоза, играет

ключевую роль в защите клеточных структур от окислительного стресса [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние МЧ атмосферного воздуха на развитие окислительного стресса у здоровых жителей урбанизированной территории.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

На основании многолетних наблюдений (2010–2014 гг.) [1] выбраны две модельные точки: условно благоприятная (побережье, о. Русский) и неблагоприятная (транспортная развязка, материковая часть Владивостока). Пробы снега отбирали в период с 2010 по 2014 гг. [1]. Собирали верхний слой (5–10 см) свежеснежного покрова с площади 1 м². После таяния снега образцы анализировали на лазерном анализаторе частиц Analysette 22 NanoTec (Fritsch,

Германия). Вещественный анализ взвесей проводили на световом микроскопе Nikon SMZ1000 и сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-3400N с энергодисперсионным спектрометром Ultra Dry (Thermo Scientific, США). Содержание ионов металлов определяли масс-спектрометрией высокого разрешения с индуктивно связанной плазмой (Thermo Fisher Scientific, США). Исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.), одобрено Комитетом по биомедицинской этике Института. Исследование включало 121 условно здорового мужчину и 134 условно здоровых женщины в возрасте от 28 до 54 лет (средний возраст – 37 ± 6 лет), проживающих и работающих не менее 5 лет на исследуемых территориях. Критерии исключения: наличие острого заболевания, факторов профессионального риска, прием лекарственных препаратов, курение. Добровольцы разделены на две группы, сопоставимые по возрасту и полу: группа 1 – проживающие в условно благоприятной зоне; группа 2 – проживающие в неблагоприятной зоне. Образцы плазмы крови исследовали методом иммуноферментного анализа. Для оценки параметров перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты (ПОЛ – АОЗ) использовали реактивы: тиоредоксин-1 (TRP1), тиоредоксин редуктаза 1 (TRP1), малоновый диальдегид (МДА), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) (Northwest Life Science Specialties, USA); протеин карбонил (ПК) (BioCell Corporation, New Zealand); антиоксидантная активность (АОА) (Randox Laboratories, UK); глутатион (Г), глутатион редуктаза (ГР), глутатион пероксидаза (ГП) (MyBioSource, USA); супероксиддисмутаза (СОД) (eBioscience, USA). Мембранный потенциал митохондрий лейкоцитов (МПМЛ) оценивали с использованием реагента MitoProbe™ JC-1 Assay Kit (Life Technologies, USA) на проточном цитометре BD FACS CANTO II (BD Biosciences, USA). Статистический анализ проводился в программе Statistica 10.0. Данные представлены в виде средних величин и ошибки среднего. Анализ различий между группами проведен с применением метода Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Остров Русский – административный район г. Владивостока, в котором отсутствуют крупные предприятия, загрязняющие окружающую среду, и нет интенсивного транспортного потока. В пробах преобладает природная крупнодисперсная пыль, имеющая размер частиц в сотни мкм. Такие крупные частицы не проникают в легкие и не оказывают серьезного негативного воздействия на функциональное состояние организма [6]. Выявлено, что вещественный состав твердых частиц атмосферного воздуха представлен преимущественно галитами и алюмосиликатами. Превышение нормального уровня содержания тяжелых металлов в пробах не выявлено. В пробах из неблагоприятной зоны преобладают техногенные частицы, источником которых является автотранспорт, – сажа, металлосодержащие частицы (Fe, Cr, Ni, Pb, Zn), резина, асфальт. Кроме крупных частиц, фиксируются микрочастицы потенциально опасных размеров – 200–300 нм (7 %), не идентифицируемые в пробах из относительно благоприятного района. По качественному составу они являются частицами металлов и сажи. Выявлено повышенное содержание Cr ($5,826 \pm 1,7$ против $0,35 \pm 0,2$ в чистой точке; $p \leq 0,001$). Количество частиц размерного диапазона PM10 составило 0,06–0,09 мг/м³ для благоприятной зоны и 0,12–0,23 мг/м³ для неблагоприятной. Результаты исследования иммунометаболических параметров здоровых жителей представлены в таблицах 1, 2.

Выявленные нарушения у здоровых лиц, проживающих в неблагоприятном районе, характеризуются значительным возрастанием уровня окислительного повреждения белков (на 21 %) и ДНК (на 12 %), содержания лейкоцитов с пониженным уровнем МПМ (на 53 %) относительно населения условно благоприятного района. Об активации процессов ПОЛ и смещении баланса в сторону перекисидации свидетельствует повышение уровня МДА (на 41 %) и индекса МДА/АОА (на 29 %). МЧ могут проникать в респираторный тракт намного глубже, чем большие частицы, а также сорбировать токсические вещества, в том числе металлы [6]. Увеличение уровней прооксидантных

Таблица 1

Параметры ПОЛ, МПМЛ у здоровых жителей г. Владивостока

Группа	Параметры				
	МДА, мкмоль/л	МДА/АОА, у. е.	ПК, нмоль/мг	8-OHdG, нг/мл	МПМЛ, %
Группа 1	$2,2 \pm 0,03$	$0,81 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,03$	$7,12 \pm 0,07$	$0,67 \pm 0,03$
Группа 2	$3,1 \pm 0,22^*$	$1,05 \pm 0,15$	$0,51 \pm 0,02^*$	$7,98 \pm 0,23^*$	$1,03 \pm 0,05^*$

Примечание. * – различия между группами статистически значимы при $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Параметры АОЗ у здоровых жителей г. Владивостока

Группа	Параметры						
	TRP 1, нг/мл	TRP 1, нг/мл	Г, мкг/мл	ГП, нг/мл	ГР, нг/мл	АОА, ммоль/л	СОД, нг/мл
Группа 1	$6,87 \pm 0,08$	$2,09 \pm 0,01$	$41,59 \pm 1,76$	$0,82 \pm 0,01$	$1,33 \pm 0,13$	$2,1 \pm 0,22$	$13,27 \pm 0,20$
Группа 2	$9,12 \pm 0,28^{**}$	$2,27 \pm 0,02$	$54,06 \pm 2,81^{**}$	$0,54 \pm 0,05^*$	$1,38 \pm 0,31$	$3,82 \pm 0,06^{**}$	$15,33 \pm 0,18^*$

Примечание. различия между группами статистически значимы при * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$.

маркеров (МДА, 8-OHdG, ПК) у лиц, проживающих в неблагоприятной зоне, возможно, связано с различиями в содержании металлов в микрочастицах, усиливающих процессы генерации АФК. Интенсификация процессов пероксидации вызывает ответную реакцию со стороны системы АОЗ. Увеличение общей АОА (на 82 %) позволяет в некоторой степени сдерживать процессы окислительной модификации макромолекул и поддерживать редокс-потенциал на уровне, соответствующем напряженной ответной реакции организма. У жителей г. Владивостока для поддержания антиоксидантной защиты увеличивается синтез СОД (на 15 %), осуществляющей инактивацию свободных радикалов и уменьшающий образование гидроперекисей, что обуславливает снижение продукции ГП (на 20 %). Обеспечение восстановительного потенциала тиолдисульфидного звена происходит за счет увеличения тиреодоксина (на 33 %) и глутатиона (на 30 %) при стабильном содержании редуктаз (ГР и ТРР 1). Высокое содержание хрома в атмосферных взвесах города может способствовать активации окислительного повреждения ДНК и апоптоза [4]. Избыток АФК вместе с ростом концентрации продуктов ПОЛ в крови способствует индукции процессов окислительной модификации белков, в том числе необратимой – карбонилированию [2]. Окислительное повреждение ДНК вызывает нарушение считывания информации и опосредует синтез белков с измененными физико-химическими свойствами. Выраженные нарушения процессов репарации белков приводят к активации апоптоза. Высокая активность АОС у здоровых жителей неблагоприятного района показывает наличие адаптационных ресурсов, позволяя до некоторой степени компенсировать повреждения. Наибольший вклад в механизмы защиты вносит глутатионовое звено – ГП – как основной утилизатор гидроперексидов и СОД, создающий условия для нормализации энергетической функции клеток и снижения окислительного повреждения белков. Тиоредоксиновое звено – АОС – подключается при возрастании уровня окислительного повреждения ДНК как основной репаративный фактор. Пролонгированное воздействие микрочастиц может привести к стойким изменениям в трансдукции сигнала, экспрессии генов, истощению адаптационных возможностей организма и может способствовать развитию патологии.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Голохваст К.С. Атмосферные взвеси городов Дальнего Востока. – Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2013. – 178 с.
2. Golokhvast KS (2013). Urban atmospheric suspensions of the Russian Far East [Atmosfernye vzvesi gorodov Dal'nego Vostoka], 178.
3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинко-биохимические процессы. – СПб.: Мед. Пресса, 2006. – 397 с.
4. Dubinina EE (2006). Products of oxygen metabolism in the functional cell activity (life and death, creation

and destruction). Physiological, clinical and biochemical processes [Produkty metabolizma kisloroda v funktsional'noy aktivnosti kletok (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie protsessy], 397.

3. Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA 3rd, Brook JR, Bhatnagar A, Diez-Roux AV, Holguin F, Hong Y, Luepker RV, Mittleman MA, Peters A, Siscovick D, Smith SC Jr, Whitsett L, Kaufman JD (2010). Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 121 (21), 2331-2378.
4. Faurschou A, Menne T, Johansen JD, Thyssen JP (2011). Metal allergen of the 21st century – a review on exposure, epidemiology and clinical manifestations of palladium allergy. *Contact Dermatitis*, 64 (4), 185-195.
5. Gehring U, Gruzdeva O, Agius RM, Beelen R, Custovic A, Cyrys J, Eeftens M, Flexeder C, Fuertes E, Heinrich J, Hoffmann B, de Jongste JC, Kerkhof M, Klümper C, Korek M, Mölter A, Schultz ES, Simpson A, Sugiri D, Svartengren M, von Berg A, Wijga AH, Pershagen G, Brunekreef B (2013). Air pollution exposure and lung function in children: the ESCAPE project. *Environmental Health Perspectives*, 121 (11-12), 1357-1364.
6. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, Amann M, Anderson HR, Andrews KG, Aryee M, Atkinson C, Bacchus LJ, Bahalim AN, Balakrishnan K, Balmes J, Barker-Collo S, Baxter A, Bell ML, Blore JD, Blyth F, Bonner C, Borges G, Bourne R, Bousinesq M, Brauer M, Brooks P, Bruce NG, Brunekreef B, Bryan-Hancock C, Bucello C, Buchbinder R, Bull F, Burnett RT, Byers TE, Calabria B, Carapetis J, Carnahan E, Chafe Z, Charlson F, Chen H, Chen JS, Cheng AT, Child JC, Cohen A, Colson KE, Cowie BC, Darby S, Darling S, Davis A, Degenhardt L, Dentener F, Des Jarlais DC, Devries K, Dherani M, Ding EL, Dorsey ER, Driscoll T, Edmond K, Ali SE, Engell RE, Erwin PJ, Fahimi S, Falder G, Farzadfar F, Ferrari A, Finucane MM, Flaxman S, Fowkes FG, Freedman G, Freeman MK, Gakidou E, Ghosh S, Giovannucci E, Gmel G, Graham K, Grainger R, Grant B, Gunnell D, Gutierrez HR, Hall W, Hoek HW, Hogan A, Hosgood HD 3rd, Hoy D, Hu H, Hubbell BJ, Hutchings SJ, Ibeanusi SE, Jacklyn GL, Jasrasaria R, Jonas JB, Kan H, Kanis JA, Kassebaum N, Kawakami N, Khang YH, Khatibzadeh S, Khoo JP, Kok C, Laden F, Lalloo R, Lan Q, Lathlean T, Leasher JL, Leigh J, Li Y, Lin JK, Lipshultz SE, London S, Lozano R, Lu Y, Mak J, Malekzadeh R, Mallinger L, Marcenes W, March L, Marks R, Martin R, McGale P, McGrath J, Mehta S, Mensah GA, Merriman TR, Micha R, Michaud C, Mishra V, Mohd Hanafiah K, Mokdad AA, Morawska L, Mozaffarian D, Murphy T, Naghavi M, Neal B, Nelson PK, Nolla JM, Norman R, Olives C, Omer SB, Orchard J, Osborne R, Ostro B, Page A, Pandey KD, Parry CD, Passmore E, Patra J, Pearce N, Pelizzari PM, Petzold M, Phillips MR, Pope D, Pope CA 3rd, Powles J, Rao M, Razavi H, Rehfuss EA, Rehm JT, Ritz B, Rivara FP, Roberts T, Robinson C, Rodriguez-Portales JA, Romieu I, Room R, Rosenfeld LC, Roy A, Rushton L, Salomon JA, Sampson U, Sanchez-Riera L, Sanman E, Sapkota A, Seedat S, Shi P, Shield K, Shivakoti R, Singh GM, Sleet DA, Smith E, Smith KR, Stapelberg NJ, Steenland K, Stöckl H, Stovner LJ, Straif K, Straney L, Thurston GD, Tran JH, Van Dingenen R, van Donkelaar A, Veerman JL, Vijayakumar L,

Weintraub R, Weissman MM, White RA, Whiteford H, Wiersma ST, Wilkinson JD, Williams HC, Williams W, Wilson N, Woolf AD, Yip P, Zielinski JM, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M, AlMazroa MA, Memish ZA (2012). A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions,

1990–2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet*, 380 (9859), 2224–2260.

7. Mahmood DFD, Abderrazak A, El Hadri K, Simmet T, Rouis M (2013). The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19 (11), 1266–1303.

Сведения об авторах Information about the authors

Виткина Татьяна Исааковна – доктор биологических наук, профессор РАН, заведующая лабораторией медицинской экологии и рекреационных ресурсов Владивостокского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения (690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г; тел.: 8 (423) 278-82-01; e-mail: tash30@mail.ru)

Vitkina Tatyana Isaakovna – Doctor of Biological Sciences, Professor RAS, Head of the Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources of the Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment (690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g; tel.: +7 (423) 278-82-01; e-mail: tash30@mail.ru)

Янькова Вера Иннокентьевна – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории медицинской экологии и рекреационных ресурсов Владивостокского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения (e-mail: jankova_nch@list.ru)

Yankova Vera Innokentyevna – Candidate of Biological Sciences, Docent, Senior Research Officer of the Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources of the Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment (e-mail: jankova_nch@list.ru)

Гвозденко Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, директор Владивостокского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения

Gvozdenko Tatyana Aleksandrovna – Doctor of Medical Sciences, Professor RAS, Director of the Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment

Денисенко Юлия Константиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией биомедицинских исследований Владивостокского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения (e-mail: karaman@inbox.ru)

Denisenko Yuliya Konstantinovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Biomedical Researches of the Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment (e-mail: karaman@inbox.ru)

Голохваст Кирилл Сергеевич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской экологии и рекреационных ресурсов Владивостокского филиала ФГБНУ бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; заместитель директора по развитию ФГАОУ «Дальневосточный федеральный университет» Минобрнауки РФ (690990, г. Владивосток, ул. Суханова, 8; e-mail: droopy@mail.ru)

Golokhvast Kirill Sergeevich – Doctor of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources of the Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment; Deputy Director on Development of Far Eastern Federal University (690990, Vladivostok, Sukhanov str., 8; e-mail: droopy@mail.ru)