

УДК 577.3: 681.3.066 (470.324)

БИОМОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА ВОРОНЕЖА

Мячина О.В., Зуйкова А.А., Пашков А.Н., Пичужкина Н.М.

ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»

Минздрава России, Воронеж, e-mail: mail@vsmaburdenko.ru

Проведено биомониторинг электрокинетической активности клеток (ЭКА) буккального эпителия у здоровых и страдающих различной соматической патологией жителей экологически благоприятного Центрального и промышленного Левобережного районов г. Воронежа. Получены параметры нормальных значений электрокинетической активности буккальных эпителиоцитов у лиц одинакового возраста. Статистически значимых отличий по показателю ЭКА между пациентами, страдающими одинаковыми нозологическими формами, но проживающими в контрастных по уровню антропогенной нагрузки районах, не выявлено. Наименее выражено отклонение ЭКА у больных гипертонической болезнью, у пациентов с сахарным диабетом наблюдается значительное его снижение. Это позволяет рассматривать электрокинетическую активность ядер как интегральный показатель состояния здоровья у лиц одинакового возраста и использовать его для проведения скрининговых исследований.

Ключевые слова: электрокинетическая активность, буккальный эпителий, соматическая патология, антропогенная нагрузка

BIOMONITORING OF THE FUNCTIONAL STATUS OF THE RESIDENTS OF THE CITY OF VORONEZH

Myachina O.V., Zuykova A.A., Pashkov A.N., Pichuzhkina N.M.

Voronezh State Medical University a. N.N. Burdenko, Voronezh, e-mail: mail@vsmaburdenko.ru

We have done the biomonitoring of electrokinetic cell activity (ECA) of buccal epithelium in healthy and suffering from various somatic pathology people. They lived in ecologically favorable Central and industrial Levoberezhny districts of Voronezh. The parameters was obtained of normal values electrokinetic activity of buccal epithelial cells in individuals of the same age. A Statistically significant differences in terms of the ECA between patients suffering from the same nosological forms, but living in the contrasting on level technogenic load areas have not been identified. The least deviation ECA expressed in hypertensive patients, in patients with diabetes there is a significant reduction in its. This allows us to consider electrokinetic activity of buccal epithelium as an integral indicator of the health of the persons of the same age, and use it for screening.

Keywords: electrokinetic activity, buccal epithelium, somatic pathology, technogenic load

Значительная часть работ, посвященных изучению воздействия антропогенного загрязнения основных природных сред на здоровье населения, проводятся посредством сравнения двух контрастных по уровню нагрузки территорий. Такие исследования позволяют констатировать сам факт существования достоверных сдвигов в организме человека под влиянием комплекса находящихся в окружающей среде химических соединений, но для оценки индивидуальных рисков от воздействия химических веществ они в принципе не пригодны [7].

Другая часть современных исследований влияния факторов окружающей среды на здоровье использует различные демографические показатели, показатели заболеваемости, инвалидности и физического развития, что в недостаточной мере отражает как состояние здоровья населения, так и характер взаимоотношений в системе среда – здоровье [1]. Значительно меньшее внимание уделяется вопросам индивидуальной чувствительности к действию вредных факторов окружающей среды.

Одним из перспективных способов оценки функционального состояния человека и его биологического возраста является анализ электрокинетической активности (ЭКА, %) буккальных эпителиоцитов, отражающий биофизические процессы, происходящие в живой клетке. ЭКА имеет большие индивидуальные различия, обусловленные как генотипом, так и множеством внешних факторов, влияющих на физиологическое состояние организма.

В связи с этим целью нашего исследования стало проведение биомониторинга функционального состояния путем определения электрокинетической активности буккальных эпителиоцитов у жителей г. Воронежа.

Материалы и методы исследования

Электрическая активность клеток буккального эпителия изучена у 98 обследуемых, проживающих как в экологически благоприятном Центральном районе, так и в промышленном Левобережном районе г. Воронежа. Из них 41 практически здоровый человек (контроль), 21 больной гипертонической болезнью (ГБ), 14 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), 22 страдающих сахарным диабетом 2 типа (СД 2 тип).

Поскольку динамика изменений электрокинетической активности не однозначна на протяжении всей жизни человека, большинство исследуемых групп было сопоставимо по возрастному критерию. Средний возраст обследованных составил $59,8 \pm 1,8$ лет в группе ГБ, $64,1 \pm 1,9$ лет среди больных СД и $60,8 \pm 2,4$ лет среди здоровых. Больные ИБС относились к старшей возрастной группе – $72,29 \pm 2,19$ лет.

Обследование больных производилось амбулаторно в период обострения заболевания как в поликлинике № 1, расположенной в Центральном районе (условно чистая территория), так и в поликлинике № 18, расположенной в Левобережном районе (промышленная зона) г. Воронежа.

Забор материала проводили в утренние часы натощак до приема лекарственных препаратов, так как потенциал клеточных ядер меняется в зависимости от времени суток. Обследуемые тщательно прополаскивали рот дистиллированной водой. Затем с внутренней поверхности щеки легкими скользящими движениями шпателя получали соскоб клеток, переносили его на предметное стекло, наносили на него каплю раствора 3,03 мМ фосфатного буфера (рН 7,0) и 2,89 мМ хлорида кальция, накрывали сверху покровным стеклом. Важным моментом данного исследования является использование нативного неокрашенного материала. Полученный препарат помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу. Учет результатов проводили в течение ближайших 1–2 часов.

Данное исследование основано на методе внутриклеточного микроэлектрофореза при изучении клеток человека, разработанным в 1973 году В.Г. Шахбазовым и соавторами [8].

Препарат помещали в камеру для микроэлектрофореза, частота смены полярности на электродах со-

ставляла 1 Гц. Камеру располагали на предметном столике микроскопа. Исследование материала проводили в световом микроскопе BIOLAR PI при увеличении $\times 400$ (рисунок).

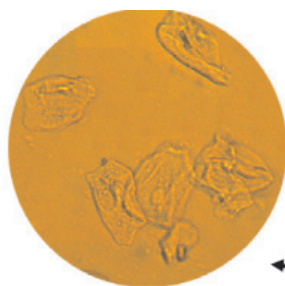
Учитывали неповрежденные клетки с ядрами округлой формы. В каждом препарате просматривали не менее 100 клеток и определяли процент живых клеток, совершающих колебательные движения в переменном электрическом поле (их электрокинетическую активность – ЭКА, %).

Для наглядности и более углубленного изучения исследуемых клеток также проводилась регистрация их электрокинетической активности на видео с помощью цифрового микроскопа Levenhuk при увеличении $\times 10$.

Результаты исследования и их обсуждение

При обследовании практически здоровых людей авторами получены параметры нормальных значений электрокинетической активности клеток буккального эпителия независимо от пола. Полагаясь на эти результаты, провели скрининг больных. Статистически значимых отличий по показателю ЭКА между пациентами, страдающими одинаковыми нозологическими формами, но проживающими в контрастных по уровню антропогенной нагрузки районах, выявлено не было, поэтому их объединили в одну группу согласно нозологии.

Данные по изучению электрокинетической активности буккальных эпителиоцитов представлены в таблице.



Клетки буккального эпителия



Световой микроскоп BIOLAR PI

Исследование электрокинетической активности клеток

Достоверность отличий уровня ЭКА между больными и практически здоровыми лицами

Группа	Среднее значение $M \pm m$	Стандартное отклонение (δ)	Доверительный интервал $+/-$	$ T_{\text{расч.}} $	Достоверность различий ($T_{\text{табл}} = 2,02$)
ГБ	$25,92 \pm 1,73$	7,95	31,77	3,70	+
СД	$17,47 \pm 2,00$	9,39	28,6	5,98	+
Контроль	$36,73 \pm 2,50$	11,99	46,93		
ИБС	$19,78 \pm 2,61$	9,78	27,93	4,43	+

Примечание. «+» – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Установлено, что у пациентов с разными нозологическими формами прослеживается статистически значимое снижение показателя ЭКА клеток в периоде обострения заболевания по сравнению с практически здоровыми людьми. Причем наиболее низкий уровень электрокинетической активности клеток выявлен у больных сахарным диабетом – $17,47 \pm 2,00\%$.

По мнению О.А. Панченко и других (2010), функциональное состояние эпителиоцитов зависит от тяжести заболевания сахарным диабетом и его осложнений [5]. У пациентов с ИБС показатель ЭКА занимает средние значения – $19,87 \pm 2,61\%$, хотя они относятся к более старшей возрастной группе. У страдающих гипертонической болезнью, наиболее близких по возрасту к практически здоровым лицам, наблюдается также значительное уменьшение ЭКА буккального эпителия до $25,92 \pm 1,73\%$.

Статистически значимые отличия также прослеживаются между группами ГБ и СД ($T_{\text{расч}} = 2,45 > T_{\text{табл}} = 2,02$ при $p < 0,05$), что может явиться следствием метаболических и гормональных сдвигов, происходящих в организме и отражающихся на буккальном эпителии.

На электрокинетический потенциал клеток могут оказывать воздействие нейрогуморальные сдвиги, приводящие к изменениям физико-химического состава слюны и отражающиеся на ЭКА буккальных эпителиоцитов. Биологически активные вещества посредством взаимодействия с мембранными рецепторами и проникновения в цитоплазму клеток влияют на состояние генетического аппарата, степень конденсации хроматина и метаболические системы клетки. С другой стороны, на заряде клетки могут отражаться изменения кинетики трансмембранного перемещения ионов. Так, уменьшение концентрации хлорида натрия, избыток ионов Ca^{2+} в межклеточной среде сопровождаются сдвигами электрокинетического потенциала клетки [6]. Это позволило нам рассматривать ЭКА как интегральный показатель обмена веществ в организме в целом.

Поскольку ЭКА является весьма лабильной, не учитывать влияние на нее аэротехногенного загрязнения. В частности, нами установлено, что заболеваемость сахарным диабетом 2 типа четко коррелирует со среднегодовыми концентрациями в атмосферном воздухе оксида меди, причем это прослеживается как на благоприятной территории, закрепленной за поликлиникой № 1 ($r = 0,4$), так и в промышленной зоне обслуживания поликлиники № 18 ($r = 0,8$). Известно, что медь входит в состав многих ферментов, участвует в тканевом дыхании, эндокринных, биохимических, энергетических процессах в организме. Этот элемент необходим для синтеза коллагена, эластина, фосфолипидов, миелиновых оболочек нервов. Действие меди на углеводный обмен проявляется посредством ускорения процессов окисления глюкозы, торможения распада гликогена в печени. Однако антропогенный оксид меди ослабляет темпы роста и развития, приводит к нарушениям деятельности дыхательной, нервной систем, нарушению функций печени и почек, снижению иммунитета. По данным мониторинговых наблюдений за состоянием атмосферного воздуха в исследуемый период с 2005 по 2010 годы отмечается превышение гигиенических нормативов содержания оксида меди в 6,9% проб по г. Воронежу [4].

Поскольку выделение токсикантов из организма происходит не только через органы дыхания, желудочно-кишечный тракт, кожу, молочные железы, но и через слюну как в неизменном состоянии, так и в виде различных метаболитов, то на химическом составе секретов больших слюнных желез могут также отражаться обнаруженные взаимосвязи между болезнями системы кровообращения и концентрацией в атмосферном воздухе формальдегида, фенола и оксида углерода (r от 0,41 до 0,79, $p < 0,05$). Литературные данные подтверждают, что гематосаливарный барьер не является препятствием для многих токсических веществ [3]. Токсическое действие этих соединений во многом обусловлено их химической

активностью, т.е. способностью воздействия на физиолого-биохимические системы, рецепторный аппарат, структуру и функцию клеточных мембран и клеточный метаболизм, ферментные системы, а также на иммунную систему организма [2].

Воздействие аэротехногенной нагрузки на организм в величинах, превышающих привычные для него, можно расценивать как стрессирующий фактор. В условиях стресса, как известно, повышается уровень катехоламинов, что также способствует снижению электрокинетической активности клеток буккального эпителия.

Заключение

На основании полученных данных можно заключить, что на фоне патологических состояний (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца) электрокинетическая активность клеток буккального эпителия снижается. Причем наименее выражены эти изменения у больных ГБ, в большей степени – у пациентов с СД 2 типа. Это позволяет рассматривать электрокинетическую активность ядер как интегральный показатель состояния здоровья у лиц одинакового возраста и использовать его для проведения скрининговых исследований.

Список литературы

1. Иванников А.И., Иванникова Н.В., Лихачева А.М. Влияние гигиенического состояния окружающей среды на уровень интеллектуального развития школьников Воронежа: научное издание // Гигиена и санитария. – 2007. – № 5. – С. 54–55.
2. Измеров Н.Ф. Профессиональная патология. Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 784 с.
3. Коротко Г.Ф. Организация желудочного пищеварения // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2006. – № 1. – С. 17–25.
4. Мячина О.В., Зуйкова А.А., Пашков А.Н., Пичужкина Н.М. Исследование аэрогенной нагрузки на состояние буккальных эпителиоцитов у больных сахарным диабетом // Экология человека. – 2012. – № 10. – С. 61–64.
5. Панченко О.А., Корниенко Н.Л., Онищенко В.О., Павлова Е.В., Евклева Е.П. Электрокинетическая ха-

рактеристика клеток буккального эпителия для оценки функционального состояния организма больных сахарным диабетом [Электронный ресурс]. – Режим доступа <http://www.sworld.com.ua/index.php/uk/veterinary-medicine-and-pharmaceuticals/clinical-medicine/1338-panchenko-oa-kornienko-nl-onishchenko-in-pavlova-ev-evklevskaia-ep> (дата обращения 31.05.2015).

6. Самойлов В.О. Медицинская биофизика. – М.: СпецЛит, 2007. – 560 с.
7. Хрипач Л.В., Князева Т.Д., Скворцова Н.С., Корсунская И.М., Розенталь В.М., Зыкова И.Е., Ревазова Ю.А., Новиков С.М. Методологическая схема обследования городского населения с многоуровневыми оценками экспозиции загрязнителями атмосферного воздуха // Гигиена и санитария. – 2007. – № 5. – С. 65–67.
8. Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В., Набоков А.Л. Новый метод определения биологического возраста человека // Лабораторное дело. – 1986. – № 7. – С. 404–406.

References

1. Ivannikov A.I., Ivannikova N.V., Lihacheva A.M. *Gigiena i sanitarija*, 2007, no. 5, pp. 54–55.
2. Izmerov N.F. *Professionalnaja patologija. Nacionalnoe rukovodstvo* [Professional pathology. National leadership]. Moscow, GJeOTAR-Media, 2011. 784 p.
3. Korot'ko G.F. *Vestnik hirurgicheskoi gastrojenterologii*, 2006, no. 1, pp. 17–25.
4. Myachina O.V., Zuykova A.A., Pashkov A.N., Pichuzhkina N. M. *Jekologija cheloveka*, 2012, no. 10, pp. 61–64.
5. Panchenko O.A., Korniyenko N. L., Onishchenko V. O., Pavlova E.V., Evklevskaia E.P. Available at: <http://www.sworld.com.ua/index.php/uk/veterinary-medicine-and-pharmaceuticals/clinical-medicine/1338-panchenko-oa-kornienko-nl-onishchenko-in-pavlova-ev-evklevskaia-ep>
6. Samojlov V.O. *Medicinskaja biofizika* [Medical biophysics]. Moscow, SpecLit, 2007. – 560 p.
7. Hripach L.V., Knyazeva T.D., Skvortsov N.S., Korsunskaya I.M., Rosenthal V.M., Zyikova I.E., Revazova Yu.A., Novikov S.M. *Gigiena i sanitarija*, 2007, no. 5, pp. 65–67.
8. Shhabazov V.G., Kolupaeva T.V., Nabokov A.L. *Laboratornoe delo*, 1986, no. 7, pp. 404–406.

Рецензенты:

Попова Т.Н., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой медицинской биохимии и микробиологии, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж;
Степкин Ю.И., д.м.н., профессор, главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Воронежской области», г. Воронеж.