

САБИРОВ ЖАНБОЛ БАЙЖАНОВИЧ

**ОБОСНОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ ДОНОЗОЛОГИЧЕСКИХ
СОСТОЯНИЙ У ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ
НЕБЛАГОПРИЯТНОМ РЕГИОНЕ**

АННОТАЦИЯ

**диссертации на соискание степени доктора философии PhD по
специальности 6D060700-Биология**

Актуальность исследования. В настоящее время одной из важнейших задач науки, как и в области фундаментальных исследований по естественным наукам, так и в прикладных разработках является изучение влияния неблагоприятных факторов среды на состояния здоровья населения. Большая часть крупных городов сегодняшнего мира находятся в экологически неблагоприятных условиях. Состояние объектов окружающей среды - важный показатель, определяющий условия жизни людей и всех живых существ в биосфере.

В Казахстане остается очень сложная экологическая обстановка в ряде регионах: на юге высыхания Аральского моря, на северо-востоке последствия ядерных испытаний на крупнейшем в мире ядерном полигоне, в центре химическая промышленность.

Ухудшающаяся экологическая обстановка приводит к накоплению в объектах окружающей среды различных химических веществ, что обуславливает поступление большинства ксенобиотиков в организм человека, способные оказывать генотоксическое, цитотоксическое воздействие. Среди неблагоприятных факторов, особое внимание заслуживают взвешенные частицы, которые представляют собой пыль, в состав которой входит комплекс химических элементов, которые могут значительно превышать предельно допустимую концентрацию (ПДК) и в связи с этим рассматриваются как фактор риска для здоровья человека. Одним из основных компонентов пыли являются металлы, их кумуляция возрастает при длительной экспозиции в неблагоприятной гигиенической обстановки. Тяжелые металлы в последние десятилетия являются одним из самых распространенных факторов загрязнения окружающей среды. Накопление их в окружающей среде является следствием экологических бедствий, деятельности промышленных предприятий, влияния автотранспорта и других антропогенных воздействий. Одним из доказательств влияния химических факторов на наследственную информацию является констатация свершившихся фактов, таких как увеличение случаев врожденной патологии, генетических и наследственных синдромов, увеличение числа новообразований.

Принимая во внимание выше сказанное, можно заключить, что понимания начальных этапов патогенетических процессов и обнаружения

предикторов ранних физиологических нарушений у населения, проживающего в неблагоприятной экологической обстановке является весьма актуальными. Поиск ответов на вопросы о степени генотоксической, цитотоксической и метаболической опасности химических веществ, к которым относятся ионы тяжелых металлов ведутся много лет, но до сих пор не выяснены механизмы такого воздействия на организм человека. Различные исследования показывают токсичные и мутагенные свойства химических веществ, хотя к общей концепции патогенеза придти не удается, поскольку физиологическая роль металлов и их значение в процессе жизнедеятельности организма неопределенны в полной мере. Известно, что концентрация многих токсикантов, в объектах окружающей среды промышленных регионов и территорий экологического кризиса, заметно превышают аналогичные концентрации в объектах окружающей среды сравниваемых регионов, а также общепринятых значений ПДК для данных элементов. В связи с этим, возникает необходимость изучить особенности развития неблагоприятных проявлений на молекулярном, клеточном, геномном уровнях.

Цель исследования. Выявление биоиндикаторов ранних изменений в организме в условиях проживания в экологически неблагоприятном регионе.

Задачи исследования:

1. Выявить уровень микроэлементного статуса в крови у населения, проживающего в экологически неблагоприятных условиях.
2. Определить характер изменений гематологических и биохимических показателей, возникающих у населения, проживающего в экологически неблагоприятных условиях.
3. Дать цитоморфологическую оценку состоянию клеток эпителия у населения, проживающего в экологически неблагоприятных условиях.
4. Обосновать влияние химических факторов на возникновение индуцированного мутагенеза на основе частоты и спектра хромосомных aberrаций.

Объект исследования: базы данных, биологические субстраты, препараты хромосом, культуры клеток, предметные стекла мазков эпителиев, сыворотка и цельная кровь.

Методы исследования. Для решения поставленной цели оценивали уровень хромосомных aberrаций, дана цитоморфологическая оценка эпителиальных клеток, проведен микроэлементный, биохимический и гематологический анализы. Использованы следующие методы исследования: «культивирование лимфоцитов в периферической крови», «метод учета хромосомных aberrаций», «методика кариотипирования», «метод учета микроядер», «спектральный анализ на содержание химических элементов методом атомной эмиссии», исследования показателей буккальных эпителий щёк (БЭЩ), биохимический и гематологический анализ крови, статистический анализ.

Полученные результаты, их новизна, научная и практическая значимость.

Научная новизна исследования заключается в определении особенностей ранних изменений клеточного гомеостаза и характера сдвига процессов клеточной регуляции (апоптоз, процессы репарации, регенерации), до проявления физиологических нарушений на уровне органов и систем организма.

Выявлены цитогенетические, цитоморфологические и метаболические отклонения, способные выступать в качестве донозологических предикторов, свидетельствующих о риске развития нарушения.

Показано, что в патогенезе образования хромосомных мутаций при воздействии химических агентов, в частности тяжелых металлов, одной из особенностей воздействия является цитоморфологические изменения клетки, где ведущим фактором является нарушение ее барьерной функции.

Отличительными чертами настоящей работы в сравнении с предыдущими, заключается:

Во-первых, в проработке дизайна исследования, включающего в себя строгие критерии включения и исключения, согласно которым выборку составили относительно здоровые лица, репродуктивного возраста, без хронических и острых заболеваний. В предыдущих работах основным критерием служили – взаимодействие с фактором воздействия (высокостажированные работники производств, с вредными производственными факторами или лица, проживающие в близлежащих районах к источнику загрязнения, с различными соматическими заболеваниями и возрастными изменениями, из-за чего в различных работа результаты были разнонаправленными, а местами даже противоречивыми);

Во-вторых, для получения более полной картины о кумуляции вредных веществ и их действии на клеточные физиологические процессы, были определены токсические микроэлементы в крови, в качестве основного фактора воздействия, а не в объектах окружающей среды, как в предыдущих работах. Поскольку химические вещества могут поступать в организм с разной интенсивностью и при различных условиях, загрязнение объектов среды может показывать различные концентрации в зависимости от времени года, направления ветра, температурного режима, окружающего ландшафта и многих других факторов, к тому же в организме индивидуума могут по-разному работать метаболические процессы трансформации, механизмы детоксикации, связывания, выведения и прочие процессы обусловленные наследственными филогенетическими и эпигенетическими факторами, учесть которые в полной мере не представляется возможным. Также определение аккумуляции тяжелых металлов в организме дает возможность понять их роль в формировании ранних изменений на клеточном и субклеточном уровнях;

В-третьих, в предыдущих работах информативно показаны особенности патологии, отдаленные последствия и изменения в состоянии здоровья на уровне органов и систем, направленные на поиск экологозависимых заболеваний. Данная исследовательская работа, в отличие от предыдущих, направлена на поиск первичных сдвигов клеточного гомеостаза и процессов

его обеспечения, а также на поиск начальных этапов изменений на клеточном и субклеточном уровнях, проявляющиеся в лабораторных показателях у здоровых лиц, проживающих в экологически неблагоприятных регионах Казахстана.

Теоретическая и практическая значимость результатов заключается в построении схемы патогенеза на клеточном и субклеточном уровнях, где было показано, что одной из особенностей воздействия является цитоморфологические изменения клетки, где ведущим фактором является нарушение ее барьерной функции. В результате денатурации мембраны в межклеточное пространство высвобождаются внутриклеточные ферменты (АСАТ), способные к транспорту некоторых её мономерных компонентов; при нарушении мембран эритроцитов в цитоплазму проникают различные вещества (вода и натрий), в результате чего они увеличиваются в объеме; нарушение целостности клеток делает доступным проникновение в них ксенобиотиков различной природы, способных оказывать мутагенные свойства (тяжелые металлы, вирусы и бактерии).

Выявлен дисбаланс микроэлементов: уровень цитотоксичных металлов в организме (свинец, никель, марганец) были увеличены относительно группы сравнения, при этом уровень жизненно важных микроэлементов (селен, цинк и йод) был значительно снижен, как следствие ингибирование внутриклеточных биохимических процессов на стадии включения эссенциальных элементов в ферменты, на фоне снижения барьерных и защитных функций.

Разработана гипотеза механизма образования хромосомных aberrаций и рассмотрены различные пути патогенеза при химическом мутагенезе, от прямого воздействия химического агента на наследственные структуры до роли в нарушении барьерной функции клетки и тем, самым в повышении проницаемости клетки для мутагенов различной природы. На основании корреляционного анализа и регрессионной модели установлен характер патологической активности тяжелых металлов и показана их роль в патогенезе формирования цитоморфологических и цитогенетических изменений. Одним из механизмов образования хромосомных aberrаций при действии химического фактора может являться ново образующиеся атомные связи между химическими элементами и молекулой ДНК, как результат конкурирование за не поделённую пару электронов донорных атомов молекулы ДНК.

Дегенеративные цитоморфологические изменения клеток (вакуольная дистрофия клеток и обсемененность микрофлорой) выступает в качестве признака токсического повреждения клетки и промежуточного звена в патогенезе формирования хромосомных aberrаций через снижение первичных барьерных и защитных функций.

Биохимические и гематологические исследования показали достоверно значимые различия с контрольной группой, при увеличении среднего объема эритроцитов (MCV), характеризующие анизоцитоз, у преобладающего процента лиц, в регионах с повышенной экологической нагрузкой.

Наблюдается общая массовая тенденция в изменении морфологической структуры клеток крови (распространения признака пограничного состояния), при нормальном состоянии основных показателей крови. В качестве биохимических критериев донозологических состояний рекомендованы показатели повышение АСАТ и ГГТ.

В качестве практической значимости предложены показатели, способные выступать как биомаркеры донозологических изменений у лиц проживающих в неблагоприятной экологической обстановке:

- уровень хромосомных aberrаций частотой выше 1,5%;
- повышенный уровень aberrаций хроматидного типа;
- цитоморфологические изменения в виде вакуольной дистрофии, кариорексиса, фагоцитированного апоптоза (остаточные тельца);
- эпителиальных клеток с признаками повреждения;
- повышенное содержание токсичных микроэлементов, таких как (Ni, Pb, Mn);
- сниженное содержание эссенциальных микроэлементов (I, Zn, Se);
- анизоцитоз эритроцитов, повышения значения MCV;
- повышение АСАТ и ГГТ.

Рекомендован спонтанный уровень ХА перестроек хромосом не превышающий 1,5 %, включая 0,85 % мутаций хроматидного типа и 0,65 % - хромосомного.

Дана шкала цитогенетического риска, включающая в себя 4 категории: допустимый, повышенный, высокий и сверхвысокий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Выявлены особенности различий в лабораторных показателях при проведении цитогенетических, цитоморфологических, микроэлементных, биохимических и гематологических исследований у здоровых лиц, проживающих в экологически неблагоприятном регионе.

2. Определены ранние изменения клеточного гомеостаза, характера сдвига процессов клеточной регуляции и лабораторные показатели отражающие данные изменения, до проявления физиологических нарушений на уровне органов и систем организма.

3. Представлен механизм патогенеза отражающий как повышение уровня токсичных микроэлементов вызывают деструктивные процессы в клетках эпителия, цитоморфологически проявляющиеся в виде вакуольной дистрофии клетки и разрушения клеточной мембраны.

4. Представлена модель формирования хромосомных мутаций, показывающая зависимость и причинно-следственную связь частоты хромосомных aberrаций с химическими микроэлементами в организме и повышением микрофлоры. Цитоморфологические изменения в клетках оказывают эффект на образования хромосомных aberrаций и выступают в качестве промежуточного этапа в процессе мутагенеза.

5. В отличие от ранних работ, предложены лабораторные показатели в качестве биоиндикаторов донозологических состояний.

Внедрение результатов работы.

В настоящее время результаты работы внедрены в «Научно-исследовательскую санитарно-гигиеническую лабораторию» Института общественного здравоохранения и профессионального здоровья НАО «МУК» и в исследовательский парк биотехнологии и экомониторинга биолого-географического факультета НАО «КарУ им. Е.А.Букетова» для выполнения исследовательских работ в биомедицинских исследованиях (Приложение А).

Декларация личного участия автора.

Автором лично разработан дизайн исследования, проведены цитогенетические, цитоморфологические и гематологические исследования, выполнены приготовления препаратов, анализ микроскопии, статистическая обработка данных. Автор участвовал в сборе биоматериала для биохимических и микроэлементных исследований, проведен статистический анализ результатов по данным видам исследования и анализ полученных результатов. Сформулированы основные положения, выводы и диссертационная работа. Самостоятельно написан текст научных публикаций. Личный вклад автора составил 89 %.

Объем и структура диссертации. Диссертация включает введение, 3 раздела, заключение, выводы и список использованной литературы. Объем диссертации составляет 150 страниц.

Количество иллюстраций, таблиц, использованных литературных источников. Диссертация иллюстрирована 12 рисунками, 44 таблицами и 1 формулой. Количество использованной литературы составляет 270, в том числе 120 иностранных источников.

Перечень ключевых слов: биомаркеры, экология, клетка, клеточный гомеостаз, мутагенез, хромосомные aberrации, микроэлементы, тяжелые металлы, буккальный эпителий щёк, микроядра, биохимия, гематология, срыв клеточной адаптации.

Апробация работы.

Результаты исследований и основные положения работы были и представлены на следующих конференциях и конгрессах:

- Актуальные проблемы биологии и экологии: материалы международной научной конференции (г. Караганда, 2018);
- Интеграция науки, образования и производства: Международная научно-практическая конференция (г. Караганда, 2018);
- Профессия и здоровье: Материалы II Международного Молодёжного Форума (г. Ялта, 2018);
- Экология. Радиация. Здоровье: материалы XIV международной научно-практической конференции (г. Семей, 2019);
- 15-й Российский национальный конгресс с международным участием «Профессия и здоровье» (г. Самара, 2019);
- Охрана здоровья медицинских работников: Материалы научно-практической конференции (г. Караганда, 2020);
- Наука и здоровье: Материалы Республиканской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием (г. Семей, 2021);

- Сохранение здоровья работающего населения. медицинские осмотры, проблемы и возможности: Материалы научно-практической конференции (г. Караганда, 2021);

Результаты опубликованы в журналах базы данных Scopus «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences» (Macedonia), «Israel Journal of Ecology and Evolution» (United Kingdom), «Медицина труда и промышленная экология» (Россия), и в журналах рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан «Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География» и «Астана медициналық журналы».

Сведения о публикациях.

1. Sabirov, Z., Namazbaeva, Z., Battakova, S., Otarbayeva, M., Mukasheva, M., & Eshmagambetova, A. (2020). Chemical Mutagenesis and Cytogenetic Chromosomal Abnormalities in a Population Living in the Aral Sea region. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 8(E), 544-550.

2. Namazbaeva, Z., Battakova, S., Ibrayeva, L., & Sabirov, Z. (2018). Change in metabolic and cognitive state among people of the Aral zone of ecological disaster. Israel Journal of Ecology and Evolution, 64(1-4), 44-55.

3. Sabirov, Z. B., Eshmagambetova, A. B., Turlybekova, G. K., Duzbayeva, N. M., Mukasheva, M. A., & Onoshko, I. A. (2020). Biochemical parameters of blood plasma of the male population living on the territory of the Aral Sea. Вестник Карагандинского университета Серия «Биология. Медицина. География». № 4(100), 100-105.

4. Сабилов, Ж. Б., Мукашева, М. А., & Ешмагамбетова, А. Б. Изучение роли цинка в образовании хромосомных aberrаций с помощью расчетного метода оценивания. (2020) Вестник Карагандинского университета Серия «Биология. Медицина. География». № 3(99), 155-160.

5. Сабилов, Ж. Б., Намазбаева, З. И., Бакбергенов, М. Б., Жарылкасын, Ж. Ж., Мукашева, М. А., Картбаева, Г. Т., ... & Жалмаханов, М. Ш. (2020). Цитоморфологическая оценка эпителия щек у лиц, проживающих в условиях экологически неблагоприятного региона. Серия «Биология. Медицина. География». № 1(97), 68-72.

6. Сабилов, Ж. Б., Намазбаева, З. И., Жанбасинова, Н. М., Цветкова, Е. В., & Киспаева, Т. Т. (2018). Оценка гематологических показателей женского населения Приаралья. Медицина труда и промышленная экология, (8), 47-52.

7. Намазбаева, З. И., Цветкова, Е. В., Сабилов, Ж. Б., Почевалов, А. М., & Жумашкин, Е. Т. (2018). Метаболический профиль населения Приаралья (зона экологического кризиса). Медицина труда и экология человека, (3 (15))

8. Намазбаева, З. И., Цветкова, Е. В., Сабилов, Ж. Б., & Сембаев, Ж. Х. (2018). Оценка гормонального профиля у лиц третьего поколения, проживающего вблизи Семипалатинского полигона. Медицина труда и промышленная экология, (8), 58-62.

9. Сабилов, Ж. Б. Оценка цитогенетического статуса у лиц, проживающих в экологически неблагоприятном регионе Приаралья. Профессия и здоровье:

Материалы II Международного Молодёжного Форума - Ялта, 2018. – С. 225 – 231.

10. Намазбаева, З. И., Тусупова К., Сабиров, Ж. Б. Донозологическая диагностика у населения в условиях радиационного риска Экология. Радиация. Здоровье: Материалы XIV Международной научно-практической конференции. – Семей, 2019 – С. 132.

11. Алешина Н.Ю., Дробченко Е.А., Сабиров Ж.Б. Заболеваемость и социально-экономические факторы. Экология. Радиация. Здоровье: Материалы XIV Международной научно-практической конференции. – Семей, 2019 – С. 40.

12. Сабиров Ж.Б., Намазбаева З.И., Назарова А.С., Цветкова Е.В. Гематологические показатели крови взрослого населения жителей г. Аксу. Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы международной научной конференции.– г. Караганда, 2018. – С. 135-140.

13. Сабиров Ж. Б., Намазбаева З. И., Мукашева М. А. Оценка показателей периферической крови у населения, проживающего вблизи Семипалатинского полигона //Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – Т. 59. – №. 9. – С. 738-739.

14. Намазбаева З.И., Цветкова Е.В., Сабиров Ж.Б., Жанбасинова Н.М., Сембаев, Ж.Х., Тыржанова С.С. Лабораторные методы в диагностике экологозависимых нарушений и заболеваний - ТОО «Санат-Полиграфия». - г. Караганда, 2018 – 33 с. ISBN 978-9965-38-348-9

15. Намазбаева З.И., Машина Т.Ф., Сабиров Ж.Б., Шокабаева А.С., Цветкова Е.В. Комплексная оценка функционального состояния и гормонального статуса населения, проживающего на территории семипалатинского полигона. - ТОО «Санат-Полиграфия». - г. Караганда, 2018 – 26 с. ISBN 978-9965-38-347-2