

АННОТАЦИЯ

Диссертации Шинетовой Ляззат Ермаковны по теме «Загрязнение ртутью реки Нура и оценка его генетического и иммунологического эффекта у людей, проживающих на ртутьсодержащей территории» на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060700 – Биология.

Актуальность темы исследования. Научно-технические достижения и глобальная индустриализация способствуют увеличению техногенных выбросов в окружающую среду. Возрастающее влияние промышленных факторов на природные объекты несет в себе опасное воздействие на живые организмы, в том числе и человека. Большая часть загрязнителей среды обитания человека – это химические соединения, или ксенобиотики, которые при поступлении в организм вызывают неблагоприятные химические реакции. К наиболее изученным загрязняющим химическим веществам относят углеводороды, оксид углерода и серы, окись азота, формальдегид, взвешенные частицы разного объема – пыль, РМ 2,5, РМ 10, диоксид азота, приземный озон, сероводород, фенол, аммиак и тяжелые металлы. Среди ксенобиотиков особое место занимают тяжелые металлы, такие как ртуть, свинец, кадмий. Они широко используются в различных видах промышленного производства и способны накапливаться в живых организмах.

Ртуть – экотоксикант, вызывающий широкий спектр изменений в тканях организма и оказывающий вредное воздействие на здоровье человека. Ртуть широко используется в промышленности, сельском хозяйстве, медицине. В окружающей среде ртуть обнаруживается в трех основных формах: элементарной, неорганической и органической, которые могут легко трансформироваться друг в друга. Ртуть включена в класс «металлических ядов», а ее токсичность зависит от химической формы и путей попадания в организм. Многочисленные исследования убедительно показали патологическое воздействие ртути на организм человека и, главным образом, на центральную нервную систему (ЦНС). Имеются сведения, что она вызывает повреждение генетического материала, иммунные дисфункции и биохимические нарушения.

Элементарная, или металлическая ртуть, в виде паров легко поглощается легкими и может задерживаться, и накапливаться в легочной ткани. В связи с растворимостью ртуть обладает высокой степенью диффузии и способна проходить через клеточные мембраны, а также гематоэнцефалический и плацентарный барьеры и достигать органы-мишени. Неорганическая ртуть, которая является двухвалентным соединением, представляет собой токсичный вид ртути, осаждаемый в тканях человека после конверсии из других форм. Органическая ртуть, представленная метил- и этилртутью, поступает в организм человека с рыбными продуктами, мясом морских млекопитающих и ртутьсодержащими вакцинами.

В докладе, опубликованном Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2005 году, отмечено, что максимальный уровень ртути в питьевой воде не должен превышать 0,5 мкг/л, тогда как содержание ртути в воздухе может достигать 10 нг/м³. Учитывая эти нормативы, допускается поступление ртути с пищей от 2 до 20 мкг в день. Расуна и коллеги в 2010 году доложили, что примерно 1300 тонн ртути было выброшено в атмосферу в Азии, за ней следуют Северная Америка, Европа, Российская Федерация, Южная Америка, Африка и Океания - каждая не менее 200 тонн.

В Казахстане одним из основных источников загрязнения ртутью окружающей среды был завод «Карбид», расположенный в г. Темиртау. С 1950 по 1997 гг., происходил сброс сточных вод ацетальдегидного производства ПО «Карбид» в реку Нуру. Появление ртути в пойме реки обусловлено, главным образом, летучей золой электростанции. Максимальная концентрация ртути была обнаружена в 15 км ниже источника загрязнения. Протяженность ртутной экспозиции вниз по течению составляла около 75 км, где по оценкам сосредотачивалось около 9,4 тонн ртути.

В 2005 году было проведено обследование жителей поселков, расположенных на пораженной ртутью территории вдоль р. Нура. Обнаружено, что подгруппы, состоящие из мужчин старше 45 лет, в основном рыбаков, имеют высокий уровень ртути в волосах. Установлена связь между концентрацией ртути в волосах и частотой употребления в пищу речной рыбы.

Ртутная интоксикация у человека проявляется в основном в виде неврологических расстройств, таких как периферическая нейропатия, кожные поражения, изменения функционирования почек, иммунной, сердечно-сосудистой и репродуктивной систем. Механизмы ртутной токсичности включают ингибирование селензависимых ферментов, а также подавление синтеза катехоламинов, вызывающих неврологические расстройства. Метилртуть связывается с плазменным цистином, образует комплексы с кератином в экскрементах, тубулинами в головном мозге и гемоглобином в эритроцитах. Проведенные недавно в Казахстане и опубликованные исследования поступления ртути в окружающую среду показали возможность ее токсического воздействия на население, включающее сотни семей Темиртауского региона. Необходимо отметить, что в задачи этих работ не входило изучение молекулярной этиологии токсического поражения ртутью. В связи с этим, в настоящем исследовании мы провели анализ воздействия ртути путем изучения ее токсичности, а также провели оценку генетических и молекулярных эффектов, которые могут быть связаны с индукцией токсических эффектов в организме человека.

Цель диссертационного исследования. Оценить загрязнение ртутью реки Нура и ртутную опасность для здоровья населения, проживающего на *экспонированной ртутью территории*.

Задачи исследования. Исходя из цели исследования, были поставлены следующие задачи:

1. Определить уровень содержания ртути в почве, воде и донных отложениях на экспонированной ртутью территории.

2. Оценить ртутную нагрузку на население, проживающее вблизи загрязненной акватории реки Нура.

3. Изучить распространенность генотипов генов детоксикации ксенобиотиков (GCLM-588 C/T (rs41303970), GSTM1, GSTT1, GSTP1 Ile105Val (rs1695) среди населения, проживающих на загрязненной ртутью территории.

4. Провести молекулярное моделирование (*in silico*) взаимодействия метилртути ($MeHg^+$) с белками системы детоксикации ксенобиотиков (*GSTP1* и *GCLM*) для уточнения механизмов их связывания и подтверждения роли данных белков в биотрансформации ртути.

5. Оценить ассоциативную связь между цитокиновым профилем сыворотки крови, гипертензией и содержанием ртути в моче у лиц, проживающих на ртутьсодержащей территории.

Объектом исследования являлись образцы почвы, воды, донных отложений, взятых с разных проблемных участков загрязненной ртутью территории, образцы периферической крови, мочи от населения.

Методы исследования: в работе были использованы химические, биохимические, молекулярно-генетические и статистические методы анализа.

Анализ содержания ртути проводился методом холодного пара с использованием ртутного анализатора инъекционного потока FIAS-100 в сочетании с атомно-абсорбционным спектрометром AAnalyst 300 (PerkinElmer, США). Генетический анализ выполнялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для определения концентраций ряда биомаркеров применялся иммуноферментный анализ (ИФА). Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Excel, SPSS и Jamovi.

Научная новизна исследования. Впервые изучено состояние загрязнения ртутью природных сред бассейна р. Нура после проведения очистных мероприятий.

Впервые изучено состояние загрязнения почв, воды и донных отложений ртутью после проведения очистных мероприятий в бассейне р. Нура.

Впервые было оценено поражение ртутью населения по уровню содержания ее в моче у населения, проживающего на экспонированной ртутью территории.

Впервые дана оценка цитокинового профиля сыворотки крови экспонированных ртутью лиц.

Впервые изучена распространенность генотипов генов детоксикации ксенобиотиков (GCLM, GSTM1, GSTT1, GSTP1) у людей, проживающих на загрязненной ртутью местности вблизи р. Нура.

Впервые проведен молекулярный докинг метилртути ($MeHg^+$) с белками системы детоксикации (GSTP1, GCLM), что позволило уточнить

возможные механизмы связывания и подтвердить роль указанных белков в биотрансформации ртути.

Теоретическая значимость работы. Результаты проведенного исследования вносят вклад в развитие современных представлений о молекулярных механизмах токсического воздействия тяжелых металлов, в частности ртути, на организм человека. Установлены ассоциации между полиморфизмами генов, участвующих в детоксикации ксенобиотиков (GSTM1, GSTT1, GSTP1, GCLM), и нарушениями иммунного ответа у лиц, подвергшихся хроническому воздействию малых доз ртути. Это позволяет рассматривать указанные гены в качестве потенциальных молекулярно-генетических маркеров чувствительности к неблагоприятным факторам окружающей среды, а также как элементы патогенетических звеньев, вовлеченных в процессы биотрансформации и воспаления. Полученные данные расширяют теоретическое понимание межиндивидуальной вариабельности ответной реакции организма на воздействие ртути, что важно для разработки концепции персонифицированного экологического риска. Исследование подчеркивает значимость генетически детерминированных различий в устойчивости к токсикантам и закладывает основу для дальнейших изысканий в области экологической генетики и молекулярной эпидемиологии. Дополнительно, результаты анализа содержания ртути в компонентах окружающей среды (почве, водной среде, донных отложениях) имеют существенное значение для экотоксикологии и гигиенической оценки состояния окружающей среды. Сопоставление выявленных концентраций с национальными и международными нормативами (ПДК, установленными ВОЗ, Европейской экономической комиссии Организации Объединенных Наций, СанПиН РК) позволило не только зафиксировать степень превышения, но и количественно оценить уровень потенциальной угрозы для здоровья населения. Это создает научную основу для выделения приоритетных территорий экологического риска, разработки критериев экологического нормирования и стратегий мониторинга.

Практическая значимость работы. Выявленные генетические повреждения и их связь с содержанием в компонентах окружающей среды позволяют создать диагностический алгоритм для выявления патологических изменений в организме, который в последующем может быть внедрен и использоваться в практической деятельности органов здравоохранения при скрининге населения, проживающего в неблагоприятных экологических регионах. Полученные результаты могут быть использованы при организации медико-экологического мониторинга населения, проживающего в условиях техногенного загрязнения, а также при формировании групп риска для целевого наблюдения и профилактики заболеваний.

Материалы исследования представляют практическую ценность для специалистов в области медицины, токсикологии, экологической гигиены и могут быть применены при разработке региональных программ охраны здоровья, санитарно-гигиенических мероприятий, а также при подготовке обучающихся курсов для медицинских и экологических работников.

Результаты работы также могут служить основой для совершенствования нормативно-правовых подходов к оценке риска воздействия тяжелых металлов на здоровье человека и окружающую среду.

Внедрение результатов исследования. Результаты настоящего исследования были внедрены в практическую деятельность Департамента экологии по Карагандинской области. В рамках сотрудничества с указанной организацией были переданы материалы, включающие данные о содержании ртути в пробах почвы, воды и донных отложений, отобранных на территориях, подвергшихся техногенному загрязнению. Представленные сведения были использованы при проведении экологического мониторинга и разработке рекомендаций по снижению воздействия токсикантов на окружающую среду и здоровье населения. Факт практического использования результатов подтвержден *Актом внедрения в производство научно-технических разработок и передового опыта* от 01.03.2024 года (Приложение А). Полученные данные легли в основу аналитических материалов, направленных на усиление надзора за загрязненными районами и обоснование необходимости проведения рекультивационных и профилактических мероприятий.

Основные положения, выносимые на защиту.

Содержание ртути в донных отложениях, почвах и воде на территории, подвергшейся воздействию ртути, значительно превышает санитарные нормативы, даже на удалении от основного источника загрязнения: на расстоянии менее 1 км от русла р. Нура, содержание ртути в пробах почвы превышает ПДК более чем в 29 раз).

Циркуляции ртути в организме населения, проживающего в зоне ртутного загрязнения в 5 раз выше, чем у неэкспонированного, что подтверждено анализом экскреции ртути с мочой.

Длительное воздействие низких доз ртути приводит к повышению уровня иммунных маркеров в сыворотке крови и риску развития гипертензии.

В группе экспонированного ртутью населения выявлены особенности распределения генотипов полиморфизма генов GCLM-588 C/T, GSTP1 Ile105Val, что свидетельствует о их роли в формировании чувствительности к токсическому действию ртути. Ассоциация между делецией гена GSTM1 (-/-) и повышенным уровнем ртути в моче экспонированных ртутью лиц подтверждает участие гена GSTM1 в механизмах детоксикации ртути и снижении токсической нагрузки на организм.

Связь темы диссертации с планами научных работ. Диссертационная работа выполнена в рамках исследования в области естественных наук «Фундаментальные исследования в области биомедицины» и является инициативной.

Результаты исследования.

1. Контаминация ртутью почв, воды и донных отложений наблюдается, во всех исследуемых районах, прилегающих к р. Нура, в зоне воздействия ртутьсодержащих отходов; максимальные уровни экспозиции зафиксированы вблизи села Гагаринское (концентрация ртути в пробах воды поверхностного слоя водоисточника выше ПДК в 18 раз, в почве - в 29 раз, в донных отложениях – в 26 раз выше фонового уровня) и села Чкалово (концентрации в воде – 4ПДК, почве – 80 ПДК, в донных отложениях выше фона в 53 раза).
2. Среднегрупповая концентрация ртути в моче у лиц, проживающих на загрязненной территории, составила $15 \text{ мкг/л} \pm 7 \text{ мкг/л}$, что выше по сравнению с неэкспонированной группой ($3 \text{ мкг/л} \pm 1.5 \text{ мкг/л}$, $p < 0.001$) и подтверждает высокий уровень воздействия ртути на организм в настоящее время.
3. Длительное воздействие ртути приводит к нарушению иммунного гомеостаза у экспонированных лиц и ассоциировано с повышенным риском развития артериальной гипертензии за счет активации системного воспаления: в сыворотке крови 68% экспонированных лиц выявлены повышенные уровни провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-2, IL-6 и противовоспалительного IL-10. Концентрация ртути в моче коррелирует с содержанием в сыворотке крови IL-2 ($\rho = 0,598$; $p < 0,001$) и TNF- α ($\rho = -0,564$; $p < 0,001$).
4. Совокупный анализ комбинаций генотипов показал, что благоприятная комбинация GSTT1+GSTM1+ встречалась вдвое реже в экспонированной группе (12,2%) по сравнению с контрольной (33,3%); накопление ртути в организме ассоциировано с полиморфизмами генов GSTM1: у носителей делеционного генотипа (GSTM1-) уровень ртути в моче выше ($2,91 \pm 0,90 \text{ мкг/л}$) по сравнению с лицами с сохранённым аллелем (GSTM1+) ($1,49 \pm 0,49 \text{ мкг/л}$, $F = 21,51$; $p < 0,05$). Это свидетельствует о сниженной способности организма к детоксикации ртути при отсутствии данного фермента и, как следствие, о повышенном накоплении токсиканта.
5. Результаты молекулярного моделирования *in silico* показали высокое сродство метилртути к активным центрам белков GSTP1 и GCLM, что согласуется с полученными данными генотипирования и косвенно свидетельствует о циркуляции в организме экспонированного населения метилированной формы ртути.
6. Комплексный анализ генетических, биохимических и иммунологических маркеров позволил выявить устойчивую взаимосвязь между ртутной нагрузкой, полиморфизмами генов глутатионовой системы и выраженностью воспалительных реакций, что позволяет рассматривать комбинацию маркеров - уровни ртути в моче, концентрации цитокинов TNF- α , IL-2, IL-6, IL-10, а также генотипы GSTM1, GSTT1, GSTP1, GCLM - как перспективные биоиндикаторы экспозиции и риска нарушений здоровья у населения, проживающего в условиях техногенного загрязнения.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования и основные положения диссертации были изложены и представлены на международных и республиканских конференциях:

1. 4th Asian Conference on Environmental Mutagens (ASEM -2014). All India Congress of Cytology and Genetics, CSIR – Indian Institute of Chemical Biology (Калькутта, 2014);

2. Научный форум: Медицина, биология и химия (Москва, 2018);

3. Актуальные экологические проблемы Тезисы VIII Международной научной конференции молодых ученых, аспирантов, магистрантов, студентов (Минск, 2018);

4. Анализ риска здоровью – 2023. Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2023. XIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием (Пермь, 2023);

5. Современные проблемы экологии и здоровья населения. II Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 300-летию Российской академии наук и V Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Экология и здоровье населения» (Ангарск-Байкал, 2023).

Публикации по теме исследования. Основные результаты диссертационного исследования отражены в 14 печатных работах, в том числе 2 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus (Impact Factor – 1.5, Q3; 3.4 – Q1), 4 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования (КОКСНВО), а также 8 докладов и тезисов на международных научных конференциях.

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, трёх основных разделов, заключения, списка использованных источников и приложений. Основные разделы диссертации сопровождаются табличным и графическим материалом для визуального восприятия представленных положений. Работа изложена на 121 странице, содержит 16 таблиц, 33 рисунка и 7 приложений.