

Гигиена окружающей среды и населённых мест

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 614.72:616.43

Синицына О.О.¹, Рахманин Ю.А.¹, Жолдакова З.И.¹, Аксенова М.Г.¹, Кириллов А.В.¹, Бурд С.Г.², Ильюкова И.И.³

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРУШИТЕЛЕЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ В ПРОБЛЕМЕ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

¹ ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119121, Москва, Россия;² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, Москва;³ Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», 220012, Минск, Республика Беларусь

Обзор литературы показал, что проблема разрушителей эндокринной системы (эндокринных разрушителей) связана с их широким распространением в окружающей среде, многочисленностью и многообразием химической структуры. Выделены 3 ведущих механизма действия эндокринных разрушителей: имитация действия естественных гормонов, блокирование рецепторов в клетках-мишенях гормонов, воздействие на их кинетику в организме. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о росте заболеваний, вызванных нарушением гормональной системы. Их связывают с воздействием эндокринных разрушителей. Вещества, абсолютно несхожие по химической структуре, могут вызывать одинаковые эффекты. По мнению ВОЗ [6], невозможно, основываясь на химической структуре, определить, является ли вещество разрушителем эндокринной системы. Однако существуют некоторые структурные особенности, которые определяют эстрогенную, тиреоидную и глюкокортикоидную активность химических веществ. Отсюда на первый план выступает необходимость дифференцировать специфическое (первичное) действие химического вещества на эндокринную систему и опосредованное (вторичное) влияние на неё через другие механизмы. В собственных исследованиях показано, что специфические механизмы следует определять в эксперименте при изучении комплекса эффектов с учётом процессов адаптации и декомпенсации и выявления эффектов, проявляющихся при наименьших дозах. Одним из методических подходов может служить система прогноза «структура – биотрансформация – активность», направленная на выявление первичных видов эффектов: с помощью квантово-химических расчётов и логико-комбинаторного метода ДСМ удалось выявить структурные фрагменты веществ, ответственные за проявление канцерогенных, аллергенных эффектов, метгемоглобинообразования и др. Результаты проведённых клинических исследований свидетельствуют, что использование фармакологических препаратов в качестве модельных для изучения *in vivo* эффектов эндокринных разрушителей позволяет не только изучать нетипичные с точки зрения молекулярной генетики механизмы воздействия эндокринных разрушителей, но и прогнозировать индивидуальную чувствительность к ним с учётом полиморфизма кандидатных генов. Проблема эндокринных разрушителей определяет необходимость комплексных междисциплинарных исследований, в том числе включающих 3 основных звена: оценку экспозиции, данные биомониторинга, распространённость эндокринозависимых заболеваний с учётом качественного и количественного вклада отдельных разрушителей эндокринной системы в развитие эколого-зависимой эндокринной патологии с использованием молекулярно-генетических методов исследования.

Ключевые слова: разрушители эндокринной системы; эндокринные разрушители; токсичность; молекулярно-генетические механизмы; химическая безопасность.

Для цитирования: Синицына О.О., Рахманин Ю.А., Жолдакова З.И., Аксенова М.Г., Кириллов А.В., Бурд С.Г., Ильюкова И.И. Эпидемиологические, токсикологические и молекулярно-генетические аспекты разрушителей эндокринной системы в проблеме химической безопасности. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(3): 197-203. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-3-197-203>

Для корреспонденции: Синицына Оксана Олеговна, доктор мед. наук, проф., член-корр. РАН, зам. директора по научной работе ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России. E-mail: labtox@sysin.ru

Sinitsyna O.O.¹, Rakhmanin Yu.A.¹, Zholdakova Z.I.¹, Aksenova M.G.¹, Kirillov A.V.¹, Burd S.G.², Ilyukova I.I.³

EPIDEMIOLOGICAL, TOXICOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC ASPECTS OF ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS IN THE CHEMICAL SAFETY PROBLEM

¹Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119121, Russian Federation;²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russian Federation;³Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, 220012, Belarus

The literature review has shown the problem of endocrine disrupting chemicals (EDC) to be associated with their wide distribution in the environment, the abundance, and variety of the chemical structure. Three leading mechanisms of EDCs action are identified as follows: imitation of the naturally occurring hormones action, blocking of receptors within the target cells of hormones, the impact of their kinetics in the body. Epidemiological studies indicate an increase in diseases caused by a disorder of the hormonal system. They are associated with the effect of EDCs. Substances that are completely dissimilar in chemical structure can cause the same effects. According to WHO [6], it is impossible, based on the chemical structure, to determine whether a substance is a disruptor of the endocrine

system. However, some structural features determine the estrogenic, thyreogenic and glucocorticoid activity of chemicals. Hence, the need to differentiate the specific (primary) effect of a chemical substance on the endocrine system and the indirect (secondary) effect on it via other mechanisms comes to the fore. In own research, specific mechanisms were shown to be determined in the experiment when studying the complexity of effects, taking into account the processes of adaptation and decompensation, and identifying the effects manifested with the lowest doses. One of the methodological approaches can be the developed "structure-biotransformation-activity" prediction system aimed at revealing the primary types of effects: using quantum-chemical calculations and the plausible reasoning class (called the JSM-reasoning in honour of John Stuart Mill) logico-combinatorial method, it was possible to identify structural fragments of substances responsible for the manifestation of carcinogenic, allergenic effects, methemoglobin formation, etc. The results of clinical studies show the use of pharmacological drugs as models for in vivo study of the effects of EDC to allow not only studying atypical mechanisms of the impact of EDCs from the point of view of molecular genetics but also to predict the individual susceptibility to them taking into account polymorphism of candidate genes. The EDCs problem poses the need for a complex of interdisciplinary research, including three main relationships: exposure assessment-biomonitoring data-the prevalence of endocrine-dependent diseases, taking into account the qualitative and quantitative contribution of individual endocrine disrupters to the development of an ecologically dependent endocrine pathology using molecular genetic methods.

Key words: endocrine disruptors; EDS; toxicity; molecular-genetic mechanisms; chemical safety.

For citation: Sinitsyna O.O., Rakhmanin Yu.A., Zholdakova Z.I., Aksenova M.G., Kirillov A.V., Burd S.G., Ilyukova I.I. Epidemiological, toxicological and molecular-genetic aspects of endocrine disrupting chemicals in the chemical safety problem. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(3): 197-203. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-3-197-203>

For correspondence: Oksana O. Sinitsyna, MD, Ph.D., Dr. Sci., professor, corresponding member of RAS, Deputy Director for research work of the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119992, Russian Federation. E-mail: labtox@sysin.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: 21 June 2017

Accepted: 18 October 2017

Интенсивное техногенное развитие современной цивилизации привело к загрязнению окружающей среды бесчисленным количеством химических веществ, исследование влияния которых на здоровье человека и состояние экологических систем необходимо для обеспечения химической безопасности населения.

Примером этого явления может служить возникший в 90-е годы прошлого века интерес к так называемым «эндокринным разрушителям» (ЭР). Впервые на эту проблему обратили внимание в связи с массовым распространением в США патологий репродуктивной системы у детей, рождённых женщинами, которые во время беременности принимали диэтилстильбэстрол (ДЭС) для предотвращения преждевременных родов [1]. Обнаруженные у людей эффекты ДЭС были многочисленно подтверждены в экспериментах на животных, что послужило причиной признания ДЭС «классическим» ЭР.

Эта проблема привлекла внимание к нарушениям эндокринной системы, связанных с действием и других химических веществ. В настоящее время известно около 800 химических веществ, способность которых оказывать влияние на функцию эндокринной системы доказана или предполагается [2]. Однако лишь небольшая часть ЭР исследована в экспериментах, способных выявить очевидные эндокринные эффекты у интактных организмов.

Под широким термином «эндокринные разрушители» (Endocrine Disruptors) понимают «экзогенные вещества или их смеси, которые изменяют функцию(и) эндокринной системы и в результате вызывают неблагоприятные последствия в неповреждённом организме или у его потомства, или (суб)популяции» [3]. К ним относятся и природные вещества, и вещества, искусственно синтезированные для различных целей. Некоторые из таких химических веществ встречаются в природе, а их синтетические разновидности можно обнаружить в пестицидах, в пластмассовых изделиях, в текстильной продукции, в продуктах для личной гигиены и косметических средствах, товарах для детей. Их используют также в качестве добавок и консервантов в пищевых продуктах. Их широ-

комасштабное воздействие ведет к повышенному риску возникновения серьёзных проблем со здоровьем. Только в странах ЕС стоимость болезней, связанных с воздействием ЭР, составляет около 163 млрд евро в год [4].

Эта группа веществ рассматривается не столько с позиций конечного эффекта (многие химические вещества опосредованно влияют на эндокринные функции), а с позиций инициирования первичных функциональных изменений, которые могут привести к эндокринным расстройствам.

Углублённое изучение механизмов действия на организм показало, что ЭР могут вмешиваться в функционирование эндокринной системы, по крайней мере, одним из трёх возможных способов [5]:

– путем *имитации действия естественных гормонов*, таких как эстроген или тестостерон, таким образом стимулируя аналогичные реакции в организме;

– путем *блокирования рецепторов в клетках-мишенях гормонов*, тем самым предотвращая действия эндогенных гормонов;

– путем *воздействия на синтез, транспорт, метаболизм и/или выведение гормонов*, приводя к изменению концентрации эндогенных гормонов в организме.

С воздействием ЭР связывают подъём заболеваний, сопровождающихся нарушением эндокринной системы, что подтверждено многочисленными исследованиями [6], а именно:

– за последние 40 лет существенно *возросло число случаев ожирения и диабета второго типа* во всем мире. По оценкам ВОЗ, 1,5 млрд взрослых людей страдают избыточным весом или ожирением. Число заболевших диабетом второго типа увеличилось со 153 млн человек в 1980 году до 347 млн человек в 2008 году;

– за последние 40–50 лет *увеличилась частота возникновения гормонозависимых онкологических заболеваний* (рак молочной железы, яичников, предстательной железы, яичек и щитовидной железы);

– во многих странах увеличился уровень неблагоприятных исходов беременности, таких как *преждевременные роды и низкая масса тела ребёнка при рождении*;

– растут поведенческие проблемы, связанные с заболеваниями щитовидной железы у детей;

– отмечена тенденция к более раннему формированию молочных желёз как первого признака начала полового развития у девочек. Это может расцениваться как фактор риска возникновения рака молочной железы в будущем;

– значительная доля (до 40%) молодых мужчин в некоторых странах имеет снижение подвижности и количества сперматозоидов, что уменьшает их фертильность;

– увеличилась частота возникновения пороков развития половых органов у мальчиков, таких как крипторхизм и гипоспадия.

Особую озабоченность вызывает воздействие ЭР на ранней стадии развития, когда результатом воздействия становятся зачастую непоправимые последствия, которые могут проявиться значительно позднее, уже во взрослом состоянии. Так как формирование различных органов и систем организма происходит в разные периоды пре- и постнатального развития, время воздействия ЭР является ключевым в понимании, какие органы или ткани могут быть поражены. Поэтому одно и то же воздействие в разные периоды развития может привести к разным последствиям. Периоды развития, когда происходит клеточная пролиферация и дифференциация, регулируемая гормонами, называют «окнами уязвимости» к эндокринным разрушителям [6].

Выделяют 4 расширенных класса ЭР, разбитые на 11 групп, которые сгруппированы с учётом физико-химических характеристик или по происхождению/области применения: стойкие и биоаккумулирующиеся галогенсоединения; менее стойкие и менее биоаккумулирующиеся соединения; пестициды, фармацевтические препараты и ингредиенты средств личной гигиены; другие химические вещества (металлы и их органические соединения, естественные гормоны, фитостероиды). В их число входят вещества из различных химических классов, включая не только структурно схожие с природными гормонами, но и стабильные и биоаккумулирующиеся соединения, в том числе и признанные как канцерогены (полихлорированные дибензодиоксины/фураны, ПХБ, гексахлорбензол, ДДТ/ДДЕ, линдан, бензо(а)пирен, бензо(а)антрацен, тетра-бромбисфенол А, малатион, мышьяк, свинец) [6, 7].

К возможным последствиям воздействия ЭР в пре- и постнатальный периоды развития относятся представленные ниже нарушения. Обобщение имеющихся данных эпидемиологических и токсикологических исследований, приведённых в обзоре ВОЗ [6], позволило выделить некоторые наиболее распространённые вещества, с воздействием которых связывают эти нарушения.

1. Нарушения репродуктивной системы (у женщин – раннее половое развитие, включая раннее формирование молочных желёз, нарушение менструального цикла, низкая плодовитость, бесплодие, ранняя менопауза, поликистоз яичников, миома матки, эндометриоз; у мужчин – крипторхизм, гипоспадия, снижение качества спермы и уровня тестостерона, синдром тестикулярной дисгенезии, рак простаты, рак яичка) – диоксины, полихлорированные бифенилы (ПХБ), бисфенол А (БФА), ДДТ, полибромированные дифениловые эфиры (ПБДЭ), фталаты, хлорорганические пестициды (ХОП), свинец, фармакологические эстрогены, кадмий, никотин, парабыны.

2. Изменение соотношения полов (феминизация) – диоксины, БФА.

3. Нарушение функции и заболевания щитовидной железы – диоксины, ПХБ, БФА, ПБДЭ, фталаты, ХОП, перфтороктановая кислота (ПФОК) и её сульфонаты, бензофеноны, парабыны, триклозан.

4. Нарушения функции нервной системы (синдром дефицита внимания и гиперактивности, аутизм) – диоксины, ПХБ, БФА, ДДТ, ПБДЭ, фталаты, свинец, ртуть и метилртуть.

5. Гормонально зависимый рак (молочной железы, эндометрия, простаты, щитовидной железы) – диоксины, ПХБ, БФА, ДДТ, ХОП, фармакологические эстрогены, кадмий, бензол, формальдегид.

6. Нарушения функции надпочечников – ПХБ, ДДТ.

7. Метаболические нарушения (ожирение, диабет 2-го типа) – диоксины, ПХБ, БФА, ДДТ, ПБДЭ, фталаты, ХОП, свинец, фармакологические эстрогены, мышьяк, никотин, ПФОК и её сульфонаты, трибутил- и трифенилолово, флавон, генистеин, глутамат натрия, никотин.

8. Нарушения функции иммунной системы и иммунные заболевания (аллергические, аутоиммунные) – диоксины, ПХБ, БФА, ПБДЭ, фталаты, мышьяк, бензофеноны, триклозан.

Как показал проведённый анализ, вещества, абсолютно несхожие по химической структуре, могут вызывать одинаковые эффекты. Например, диоксины и ПХБ способны приводить к возникновению 7 видов эффектов; БФА – 6; ДДТ, ПБДЭ и фталаты – 5; ХОП – 4; свинец и искусственные эстрогены – 3; кадмий, мышьяк, никотин, ПФОК и её сульфонаты, бензофеноны, парабыны – 2; бензол, формальдегид, ртуть, метилртуть, триоктил- и трифенилолово, триклозан и др., включая фитостероиды – 1.

В целом, по мнению ВОЗ [6], невозможно, основываясь на химической структуре, определить, является ли вещество разрушителем эндокринной системы, так как существует множество механизмов и путей, в том числе и опосредованных, через влияние на другие системы организма, за счёт которых развиваются эффекты. В некоторых случаях эндокринная активность определяется не исходным соединением, а одним или несколькими продуктами его биотрансформации (метаболитами).

Однако существуют некоторые структурные особенности, которые определяют эстрогенную, тиреоидную и глюкокортикоидную активность химических веществ. Так, эстрогенные соединения часто содержат фенольное кольцо, аналогичное эндоэстрогенам, но не имеют галогенов. Типичные тиреоидные ЭР содержат атомы хлора или брома в следующем положении после ОН-группы фенольного кольца и сходны по строению с естественным тироксином (Т4). В нарушении глюкокортикоидной активности арилметилсульфонами значение имеют сульфоновые функциональные группы. Однако во всех случаях могут быть исключения.

Отсюда на первый план выступает необходимость дифференцировать специфическое (первичное) действие химического вещества на эндокринную систему и опосредованное (вторичное) влияние на неё через другие механизмы. Одним из методических подходов может служить разработанная в НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сытина система прогноза «структура – биотрансформация – активность», направленная на выявление первичных видов эффектов. В частности, с помощью квантово-химических расчётов и логико-комбинаторного метода ДСМ удалось выявить структурные фрагменты веществ, ответственные за проявление канцерогенных [8], аллергенных эффектов [9], метгемоглобинообразования [10] и др.

На второй план выдвигается изучение в эксперименте комплекса эффектов и выявления доз, при которых обнаруживались преимущественно эффекты влияния на эндокринную систему.

В последние годы в научной литературе и международных организациях возникла интенсивная дискуссия,

связанная с методами оценки риска (опасности) ЭР, которые используют специалисты в токсикологии и эндокринологии, в частности, с установлением безопасных уровней ЭР. В типичных токсикологических экспериментах, проведённых в соответствии с принципами GLP, вредные эффекты ЭР обнаруживаются только при введении больших доз веществ (обычно больше 1 мг/кг) [11].

Однако в настоящее время имеется большое число работ, в которых вредное действие на животных обнаруживалось при воздействии значительно меньших доз, особенно при внутриутробном, перинатальном и неонатальном воздействии. Обзор их результатов опубликован в статье Vandenberg L.N. et al. [12]. Анализ данных исследования ряда веществ позволил выявить нелинейные зависимости «доза – ответ» при воздействии 12 естественных гормонов и более чем 60 ЭР как в клеточной культуре, так и в экспериментах на животных, а для 27 веществ, когда экспериментаторы следовали принципам, принятым в эндокринологии, были обнаружены эффекты влияния на эндокринную систему при действии «сверхмалых доз» (например, для БФА – это дозы меньше 0,4 мг/кг, ДДТ – 0,05 мг/кг, гептахлора – 0,15 мг/кг, гексахлорбензола – 0,08 мг/кг, перхлората – 0,4 мг/кг, оксида трибутиллолова – 0,19 мг/кг, паратиона – 0,2 мг/кг). Однако «токсикологи» по-прежнему отрицают наличие вредных эффектов при воздействии «сверхмалых» доз, так как авторы не следовали принципам GLP и не установили линейную зависимость «доза – ответ».

Вместе с тем в отечественной токсикологии дозы на уровне долей мг/кг не считаются «сверхмалыми» и широко исследуются при изучении хронического действия химических веществ. Так, пороговые дозы указанных выше веществ составляют для БФА – 0,005 мг/кг, ДДТ – 0,05 мг/кг, гептахлора – 0,005 мг/кг, гексахлорбензола – 0,005 мг/кг, перхлората – 2 мг/кг, оксида трибутиллолова – 0,0001 мг/кг, паратиона – 1 мг/кг. Эти примеры подтверждают мнение Vandenberg L.N. et al. [12] и наше о необходимости оценки опасности химических веществ в дозах ниже 1 мг/кг.

Что касается отсутствия линейной зависимости «доза – ответ», то, по-видимому, существует 2 причины: первая может быть связана с проявлением процессов адаптации и дезадаптации, которые различаются во времени при разных дозах воздействия; вторая может являться аналогом гормоноподобного действия вещества, которое также проявляется нелинейно. В этой связи уместно напомнить, что еще в 1936 г. Г. Селье [13] были сформулированы «фазы общего адаптационного синдрома». Они были развиты И.В. Саноцким [14] применительно к процессу интоксикации во времени.

В наших исследованиях было показано, что процессы адаптации и дезадаптации протекают по-разному в зависимости от доз веществ. Именно это приводило к нарушению дозовых зависимостей в определённые периоды субхронического воздействия н-бутанола, а наиболее ранние, и к тому же в самой низкой дозе, изменения касаются алкогольдегидрогеназы, что подтверждает наличие первичного механизма токсического действия н-бутанола [15]. При этом в более поздние сроки эксперимента такие изменения уже не всегда фиксировались. В то же время сопоставление пороговых доз 10 лекарств по показателям специфического и общетоксического действия [16] показало, что для большинства препаратов специфические реакции являются определяющими в установлении пороговых доз.

Таким образом, важным критерием при определении отношения вещества к ЭР (т. е. являются ли нарушения

эндокринной системы первичными) может служить соотношение доз и времени возникновения специфических и неспецифических эффектов.

Однако имеется мнение экспертов Международного химического секретариата (ChemSec), что в связи с тем, что при воздействии ЭР наблюдаются непредсказуемые зависимости «доза – эффект» (существует вероятность развития мультиэффектов, которые нельзя установить в одном тесте, они наблюдаются при действии низких доз и зависят от периода развития экспонируемого организма) установить истинные безопасные уровни невозможно [17].

Возникает правомерный вопрос: каким уровням воздействия подвергается человек. По оценкам ФАО/ВОЗ [18], экспозиции БФА составляли от 0,01 до 4,5 мкг/кг в сутки, причём наиболее сильному воздействию подвергаются младенцы, которые получают молочные смеси в поликарбонатных бутылочках. В 2010 году в рамках Международного проекта по выполнению Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ (СПМРХВ) силами неправительственных организаций-членов IPEN впервые было проведено исследование содержания БФА в пищевых продуктах в России. БФА был обнаружен в 80% проб из разных регионов России, причём в ряде продуктов питания и напитков обнаружены уровни БФА, в 2,5 – 4 раза превышающие установленные в Европейском Союзе нормативы [19]. Наибольшие концентрации БФА выявлены в продуктах, упакованных в металлические консервные банки.

Воздействие некоторых ЭР внутри помещений (воздух и пыль) может вносить существенный вклад в суммарную экспозицию. Человек подвергается воздействию в результате эмиссии ЭР из строительных материалов (ПХБ, пестициды, бромированные пламегасители), потребительских товаров (пламегасители, пластификаторы и другие добавки) и средств личной гигиены (бензофеноны, парабены).

Сравнительные анализы воздуха внутри и вне помещений, проведённые в Калифорнии, выявили более сотни значимых соединений, включая 70 потенциальных ЭР (пестициды, полициклические ароматические соединения (ПАУ), ПХБ, ПБДЭ, фталаты, алкилфенолы и парабены). Из них 63 вещества были обнаружены в воздухе внутри помещений и 39 – в воздухе снаружи помещений. Концентрации ЭР в воздухе внутри помещений были до 10 000 раз выше, чем снаружи во всех химических классах [20]. Так, концентрации ПАУ в некоторых зданиях достигала 8 мкг/м³ [21], ПХБ – 6 мкг/м³ [22], что превышает отечественные или зарубежные допустимые уровни до 8 000 раз. Однако для большинства идентифицированных в воздухе закрытых помещений ЭР допустимые уровни до сих пор не установлены.

Основная сложность в установлении безопасных уровней ЭР в объектах окружающей среды и потребительских товарах на основании данных эпидемиологических исследований (что считается наиболее надёжным методом) заключается в том, что не представляется возможности получить сведения об уровнях воздействия на население, которое в большинстве случаев происходило десятилетия назад, а эффект проявился в отсроченном периоде, в особенности у потомков. Усложняет эту возможность и признанный аддитивный эффект комбинированного действия «коктейля» ЭР. Кроме того, в эпидемиологических исследованиях практически невозможно вычленить этиологический вклад именно ЭР в развитие наблюдаемых патологий, поскольку многие эффекты ЭР могут быть обусловлены и другими химическими веществами. Поэтому,

по нашему мнению, особую ценность могут представлять исследования, включающие 3 основных звена: оценка экспозиции – данные биомониторинга – распространённость эндокринозависимых заболеваний.

В связи с выявленными недостатками рекомендованных ОЭСР токсикологических тестов, наиболее значимым из которых является то, что часто результаты, полученные в опытах на животных, прямо противоположны результатам, полученным на клеточных линиях. В последнее время для изучения механизмов вмешательства ЭР в развитие эндокринной патологии, в том числе ожирения и нарушений репродуктивных функций, широкое распространение получили методы молекулярно-генетического анализа. Современные подходы к изучению механизмов действия ЭР предполагают объединение результатов, полученных на животных, с результатами молекулярно-генетического анализа ДНК и РНК с последующим созданием биоинформационного ресурса.

В НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина (ныне ФГБУ «ЦСП» Минздрава России), в рамках Государственного задания проведены исследования по оценке качественного и количественного вклада отдельных «разрушителей эндокринной системы» в развитие эколого-зависимой эндокринной патологии с использованием молекулярно-генетических методов исследования.

В качестве объекта исследования выбраны «обезогены», которые при воздействии на организм человека приводят к нарушениям регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечной оси, углеводной и липидной систем регуляции, увеличению массы тела, ожирению и диабету 2 типа [23].

К ЭР с подтверждённой обезогенностью [6] относят и синтетические производные свободных жирных кислот (СЖК) - перфтороктановую кислоту (ПФОК) и её производные. Однако в медицинской практике широко применяются препараты, которые также структурно схожи с СЖК – это препараты вальпроевой кислоты (ПВК), для которых нередкими побочными эффектами являются увеличение массы тела, гиперандрогения и нарушение репродуктивной функции. Поэтому в наших исследованиях для изучения молекулярно-генетических механизмов развития ожирения при воздействии производных СЖК в качестве референтных, или «модельных» веществ выбраны ПВК. Исследование проводили в группе из 238 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет, принимавших не менее года ПВК в режиме монотерапии в суточных дозах от 450 до 3000 мг. Для каждого пациента проводился мониторинг набора веса, уровня инсулина и пиковой концентрации ПВК.

Для молекулярно-генетических исследований выбраны кандидатные гены для изучения механизма набора веса на фоне приема ПВК. В связи с установленным фактом связи повышения уровня СЖК в плазме с развитием инсулинорезистентности одним из кандидатных генов выбран PPAR γ 2 (кодирующий рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами), так как СЖК являются лигандами данного семейства рецепторов, активность которых может влиять на процессы обмена веществ. Их регуляция осуществляется целой плеядой эндогенных лигандов (СЖК, простогландины, белки-коактиваторы и белки-корепрессоры), которые участвуют в регуляции жирового, углеводного и энергетического обмена в организме. PPAR γ 2 экспрессируется в адипоцитах, непосредственно запускает процессы коррекции жирового обмена и опосредованно может вызывать развитие инсулинорезистентности. Замена нуклеотида в последовательности

ДНК С > G приводит к замене аминокислоты пролин (Pro) на аланин (Ala) в 12-м положении последовательности белка. Белок с аминокислотой пролин (Pro) чувствительнее к действию СЖК и других лигандов, чем белок с аминокислотой аланин (Ala) [24, 25]. Изоформа Ala12 («G») обладает меньшей транскрипционной активностью, связана со снижением индекса массы тела и повышением чувствительности к инсулину в некоторых популяциях [26, 27].

Вторым кандидатом выбран ген FABP2 (кодирующий белки, связывающиеся с жирными кислотами), исходя из предположения, что в переносе вальпроевой кислоты в кишечнике участвует белок, связывающий жирные кислоты, – продукт гена FABP2. В качестве значимого для исследования полиморфизма был выбран полиморфный локус 163G > A в нуклеотидной последовательности гена FABP2 в связи с его влиянием на внутриклеточный транспорт вальпроевой кислоты в тонком кишечнике человека. В структуре белка при этом происходит замена аминокислоты триптофан (Thr) на аланин (Ala) в 54-м положении аминокислотной последовательности (Thr54Thr и Ala54Thr).

Третьим кандидатом выбран ген UCP2 (кодирующий белок, разобщающий окислительное фосфорилирование жирных кислот в митохондриях и препятствующий окислению АДФ до АТФ). Функция этого белка заключается в рассеивании протонного градиента и превращении энергии АТФ в тепловую энергию. Но более важной функцией белка является подавление секреции инсулина и, как следствие, развитие инсулинорезистентности [28, 29]. Для исследования был выбран полиморфизм G-866A (замена нуклеотида гуанина на аденин в промотерной области гена). При варианте A-866A уровень продукции белка повышен. В ряде работ показана связь аллеля A-866A с инсулинорезистентностью, сахарным диабетом 2-го типа, ожирением и метаболическим синдромом [30, 31]. Интересно, что в изучении полиморфизма G-866A гена UCP2 в популяции индонезийского острова Бали в связи с ожирением выявлено, что генотип A-866A ассоциирован с набором массы тела только у жителей, проживающих на урбанистических территориях. Для жителей экологически чистых территорий такой связи выявлено не было [32].

На фоне монотерапии ПВК в течение года из 238 человек увеличили массу тела на 3 – 15 кг 41% (97) пациентов, у 59% масса тела не изменилась (141 пациент). Средние дозировки препарата среди набравших массу тела (1172,3 мг/сут.) соответствуют дозировкам у не набравших (1218,4 мг/сут.). Среди мужчин массу тела набрали 34% (41 чел. из 120); среди женщин – 47% (56 чел. из 118). Средние уровни инсулина у мужчин, набравших массу тела после 12 месяцев приема ПВК ($22,9 \pm 3,8$ мкМЕ/мл), достоверно отличались ($p = 0,008$) от таковых показателей у мужчин с неизменившейся массой тела ($11,3 \pm 2,9$ мкМЕ/мл). Для женщин сопоставляемые уровни инсулина также значимо различались и составляли $12,1 \pm 3,5$ мкМЕ/мл у не набравших массу тела и $19,1 \pm 2,1$ мкМЕ/мл – у набравших ($p < 0,05$). Сравнение уровней инсулина у мужчин и женщин в связи с генотипами rs1801282, С > G (Pro12Ala) гена PPAR γ проводилось в двух группах пациентов, различавшихся по изменению массы тела.

В группе обследованных как мужчин, так и женщин, набравших массу тела на фоне приема ПВК, выявлена разница в уровнях инсулина у лиц с генотипами Pro12Pro и Pro12Ala. У женщин с гомозиготным генотипом Pro12Pro и набором массы тела от 3 до 15 кг за 12 месяцев средний уровень инсулина был почти в 3 раза выше ($26,3 \pm 1,7$ мкМЕ/мл) ($p=0,006$), чем у женщин со стабильной массой

тела и с гетерозиготным генотипом Pro12Ala ($7,8 \pm 1,7$ мкМЕ/мл) ($p = 0,006$). Незначительное повышение уровня инсулина в сравнении с базальным до приема ПВК наблюдалось у женщин, не набравшим массу тела с генотипом Pro12Pro ($14,9 \pm 3,1$ мкМЕ/мл), и у женщин, увеличивших массу тела с генотипом Pro12Ala ($9,7 \pm 1,9$ мкМЕ/мл). Для женщин с гетерозиготным генотипом с неизменившейся массой тела наблюдалась слабая тенденция к снижению уровня инсулина на фоне приема ПВК ($7,8 \pm 1,7$ мкМЕ/мл). Аналогичная связь генотипа Pro12Pro с набором массы тела и высокой активностью инсулина наблюдалась для мужчин.

При генотипировании гена FABP2 G > A (Ala54Thr) с учётом редкой встречаемости генотипа Thr54Thr генотипы Thr54Thr и Ala54Thr были объединены в одну группу (Thr+). По результатам исследования, в выборке из 118 женщин было установлено, что средние уровни инсулина были значимо выше у пациенток, набравших массу тела, с генотипами Thr+ ($32,1 \pm 1,7$ мкМЕ/мл) в сравнении с пациентками как набравшими ($11,7 \pm 1,9$ мкМЕ/мл), так и не набравшими ($11,1 \pm 1,6$ мкМЕ/мл) массу тела с генотипами Ala54Ala ($p = 0,004$). Для мужчин зависимости уровня инсулина, набора веса и генотипов FABP2 не выявлено.

В группе обследованных мужчин и женщин, набравших массу тела на фоне приема ПВК, не выявлено разницы в уровнях инсулина, связанной с полиморфизмом G-866A гена UCP2. Также полиморфизм не был связан с объёмом талии (ранее показатель объём талии/объём бедер интерпретировался как показатель абдоминального типа ожирения). Абдоминальный тип ожирения, как правило, связан с развитием ожирения при метаболическом синдроме и инсулинорезистентности. Тем не менее, в общей выборке мужчин и женщин с аллелем A-866A гена UCP2, набравших массу тела ($8 \pm 2,5$ кг), отмечалась значительная разница с пациентами с не менявшейся массой тела ($2,5 \pm 1,3$ кг) с аллелем G в генотипе ($p = 0,05$). Вероятно, объяснение набора массы тела на фоне приема ПВК не укладывается в представление о развитии инсулинорезистентности у пациентов с различными генетическими вариантами UCP2. Механизм активного превращения тепловой энергии в накопление жировых запасов в зависимости, с одной стороны, от полиморфизма UCP2 и, с другой стороны, от «нагрузки» ЭР, и, в частности, модельными ПВК также возможен и требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Результаты проведённого исследования свидетельствуют, что альтернативный метод использования фарм-препаратов в качестве модельных для изучения in vivo эффектов ЭР позволил, во-первых, экспериментально подтвердить теоретически ожидаемый механизм набора веса, связанный с развитием инсулинорезистентности для генов PPAR γ и FABP2; во-вторых, выявить иной механизм набора веса, связанный, вероятно, с нарушением окислительного фосфорилирования жирных кислот для гена UCP2.

Таким образом, принимая во внимание актуальность проблемы, связанной с изучением и последующим регулированием химических веществ, разрушающих эндокринную систему, наиболее актуальным представляется развитие следующих научных направлений:

- углублённое изучение генетически обусловленной индивидуальной чувствительности человека к воздействию ЭР с использованием молекулярно-генетических методов исследования;

- изучение и систематизация на основе использования баз данных, разработанных в НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина, и баз данных

- международных, о закономерностях развития нарушений, характеризующих разрушение эндокринной системы, и о других проявлениях интоксикации в зависимости от экспозиции и дозы воздействия химических веществ с целью выявления «истинных» ЭР;

- разработка моделей для прогноза разрушающего действия на эндокринную систему неизученных веществ на основе зависимости «структура – биотрансформация – активность»;

- обоснование национального перечня приоритетных потенциально опасных в отношении разрушения эндокринной системы веществ и разработка рекомендаций по их систематическому мониторингу;

- создание банка данных биомониторинга ЭР на основе лонгитюдных эпидемиологических исследований, включающих экспозиционную характеристику распространённости эндокринозависимых заболеваний и оценка реальной опасности приоритетных для здоровья человека и последующих поколений ЭР с использованием методологии анализа риска и ущербов здоровью.

Представленные данные свидетельствуют также о необходимости проведения ряда комплексных исследований по выявлению приоритетных источников загрязнения окружающей среды (атмосферный воздух, питьевая вода, водные объекты, производственная среда) и потребительских товаров (строительные и полимерные материалы, пищевые продукты, парфюмерно-косметические изделия и др.) с оценкой их возможных рисков и ущербов здоровью населения, а также по проблемам, прежде всего, касающихся влияния ЭР на развитие ожирения и сахарного диабета 2-го типа, влияния на гормональную и репродуктивную системы человека.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Литература

(п.п. 1–7, 11–13, 17–22, 24–32 см. References)

- Харчевникова Н.В. Система прогноза токсичности и опасности химических веществ, основанная на совместном использовании логических и численных методов. *Гигиена и санитария*. 2005; 6: 21–4.
- Харчевникова Н.В., Блинова В.Г., Добрынин Д.А. Сопоставление различных моделей исследования связи «структура – астмагенная активность». *НТИ. Сер. 2. Информ. процессы и системы*. 2016; 2: 23–8.
- Харчевникова Н.В., Блинова В.Г., Добрынин Д.А., Журков В.С. Использование интеллектуальной ДСМ-системы для анализа связи структуры нитрозамещенных бензолов с их мутагенной активностью в тесте Эймса. *НТИ. Сер. 2. Информ. процессы и системы*. 2015; 3: 6–11.
- Саночкий И.В. Вопросы возрастной токсикологии (Некоторые рекомендации по проведению экспериментальных исследований в области возрастной токсикологии). В кн.: *Материалы Всесоюзного симпозиума по изучению влияния токсических веществ на молодой организм и вопросы возрастной токсикологии*. М.: 1969: 32–7.
- Жолдакова З.И., Сеницына О.О. Закономерности развития токсического процесса в зависимости от стадий дезорганизации и адаптации. *Гигиена и санитария*. 2014; 5: 112–6.
- Жолдакова З.И., Рахманин Ю.А., Сеницына О.О. *Комплексное действие веществ. Гигиеническая оценка и обоснование региональных нормативов*. М.: АртЭстамп; 2007.
- Аксёнова М.Г., Сеницына О.О., Кириллов А.В., Козлова О.Б., Бурд С.Г. Использование препаратов вальпроовой кислоты в качестве референтного вещества для изучения молекулярно-генетического механизма «обезогенности» разрушителей эндокринной системы. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(5): 422–7.

References

- Giusti R.M., Iwamoto K., Hatch E.E. Diethylstilbestrol revisited: a review of the long-term health effects. *Ann. Intern. Med.* 1995; 122(10): 778–88. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=1.%09Giusti+R.M.%2C+Iwamoto+K.%2C+Hatch+E.E.+Diethylstilbestrol+revisited%3A+a+review+of+the+long-term+health+effects.+Annals+of+Internal+Medicine.+1995>

2. Gore A.C., Crews D., Doan L.L., La Merrill M., Patisual H., Zota A., eds., Endocrine Society / IPEN. Introduction to Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs). A Guide for Public Interest Organizations and Policy-makers. 2014. Available at: <http://www.ipen.org/documents/introduction-endocrine-disrupting-chemicals-edcs>
3. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. Geneva, Switzerland, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. 2002. Available at: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/
4. Trasande L., Zoeller T., Hass U., Kortenkamp A., Grandjean P., Peterson J. et al. Estimating Burden and Disease Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in the European Union. *J. Clin Endocrinology & Metabolism*. 2015; 100(4): 1245-55. Doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4324>
5. Vlachogianni T., van Vliet L. Endocrine - Disrupting Chemicals. A Lurking Threat. Athens: MIO-ECSDE; 2013. Available at: http://www.env-health.org/IMG/pdf/02102014_joint_publication_edcs_mio_heal.pdf
6. Bergman A., Heindel J.J., Jobling S., Kidd K.A., Zoeller R.T., eds., WHO (World Health Organization)/UNEP (United Nations Environment Programme). The State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals. Geneva: UNEP/WHO; 2012. Available at: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>
7. The 32 to Leave Behind. The Most Well-founded List of EDCs Relevant for REACH. The International Chemical Secretariat (ChemSec). 2015. Available at: <http://chemsec.org/publication/endocrine-disruptors,reach,sinlist-the-32-to-leave-behind-edcs-relevant-for-reach-2015/>
8. Kharchevnikova N.V. A system for predicting the toxicity and hazard of chemical substances, based on the joint use of logistic and numerical methods. *Gigiena i Sanitariya*. 2005; 6: 21-4. (in Russian)
9. Kharchevnikova N.V., Blinova V.G., Dobrynin D.A. Comparison of the different models for study the relationship "structure – astmagenic activity. *Scientific-Technical Information. Ser. 2. Information processes and systems*. 2016; 2: 23-8. (in Russian)
10. Kharchevnikova N.V., Blinova V.G., Dobrynin D.A., Zhurkov V.S. Using of intellectual DSM system to analyze the link of the nitro-substituted benzenes with their mutagenic activity in the Ames test. *Scientific-Technical Information. Ser. 2. Information processes and systems*. 2015; 3: 6-11. (in Russian)
11. Vandenberg L.N., Colborn T., Hayes T.B., Heindel J.J., Jacobs D.R. Jr., Lee D.H. et al. Regulatory decisions on endocrine disrupting chemicals should be based on the principles of endocrinology. *Reproductive Toxicology*. 2013; 38: 1–15. Doi: [10.1016/j.reprotox.2013.02.002](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.02.002)
12. Vandenberg L.N., Colborn T., Hayes T.B., Heindel J.J., Jacobs D.R., Jr., Lee D.H. et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine Reviews*. 2012; 33(3): 378-455. Doi: [10.1210/er.2011-1050](https://doi.org/10.1210/er.2011-1050)
13. Selye H. A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*. 1936; 138(4): 32 (reprinted in *J. Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 1998; 10(2): 230a–231. Doi: <http://dx.doi.org/10.1176/jnp.10.2.230a>).
14. Sanotsky I.V. Issues of the age toxicology (Some recommendations for conducting of experimental studies in the field of the age toxicology). In: *Study of the toxic substances effects on young body and issues of the age toxicology: Proceeding of the All-Union Symposium*. Moscow; 1969: 32-7. (in Russian)
15. Zholdakova Z.I., Sinitsyna O.O. Regularities in the development of the toxic process in dependence on the stages of disorganization and adaptation. *Gigiena i Sanitariya*. 2014; 5: 112-6. (in Russian)
16. Zholdakova Z.I., Rakhmanin Yu.A., Sinitsyna O.O. *Integrated exposure of substances. Hygienic assessment and justification of regional standards*. Moscow: Art.Aestamp; 2007. (in Russian)
17. Endocrine Disrupting Chemicals Are Best Identified without the Use of Potency Cut-offs. The International Chemical Secretariat (ChemSec). 2016. Available at: <http://chemsec.org/wp-content/uploads/2016/04/Identification-of-EDCs-and-potency-cut-offs-200416.pdf>
18. Joint FAO/WHO expert meeting to review toxicological and health aspects of bisphenol A: final report, including report of stakeholder meeting on bisphenol A. 2010. Nov. 1-5; Ottawa; Canada. Geneva: WHO; 2011.
19. Survey of Bisphenol A in Russian foods. IPEN. 2010. Available at: <http://www.ipen.org/project-reports/survey-bisphenol-russian-foods>
20. Rudel R.A., Perovich L.J. Endocrine disrupting chemicals in indoor and outdoor air. *Atmos Environ*. 2009; 43(1):170–81. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2677823/>
21. Li A., Schoonover T.M., Zou Q., Norlock F., Conroy L.M., Scheff P.A., et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in residential air of ten Chicago area homes: Concentrations and influencing factors. *Atmos Environ*. 2005; 39(19): 3491–501.
22. Persson N.J., Pettersen H., Ishaq R., Axelman J., Bandh C., Broman D., et al. Polychlorinated biphenyls in polysulfide sealants—occurrence and emission from a landfill station. *Environ Pollut*. 2005; 138(1): 18–27. Doi: [10.1016/j.envpol.2005.02.021](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.02.021)
23. Aksenova M.G., Sinitsyna O.O., Kirillov A.V., Kozlova O.B., Burd S.G. Valproic acid as a reference substance for the study of the mechanism of obesogenicity of endocrine disruptors. *Gigiena i Sanitariya*. 2017; 96(5): 422-7. (in Russian).
24. Meirhaeghe A., Amouyel P. Impact of genetic variation of PPAR γ in humans. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2004; 83(1–2): 93–102.
25. Yates T., Davies M.J., Henson J., Edwardson C., Webb D., Bodicoat D.H. Effect of the PPAR γ 2 Pro12Ala Polymorphism on Associations of Physical Activity and Sedentary Time with Markers of Insulin Sensitivity in Those with an Elevated Risk of Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2015; 10(5): e0124062. Doi: [10.1371/journal.pone.0124062](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124062).
26. Horiki M., Ikegami H., Fujisawa T., Kawabata Y., Ono M., Nishino M. et al. Association of Pro12Ala polymorphism of PPAR γ gene with insulin resistance and related diseases. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2004; 66(12, Suppl.): S63–7.
27. Vaag A., Lund S.S. Non-obese patients with type 2 diabetes and prediabetic subjects: distinct phenotypes requiring special diabetes treatment and (or) prevention? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2007; 32(5): 912-20.
28. Yu X., Wiecezorek S., Franke A., Yin H., Pierer M., Sina C., et al. Association of UCP2 -866 G/A polymorphism with chronic inflammatory diseases. *Genes and Immunity*. 2009; 10(6):601–605. doi: [10.1038/gene.2009.29](https://doi.org/10.1038/gene.2009.29).
29. Beitelshes A.L., Finck B.N., Leone T.C., Cresci S., Wu J., Province M.A., et al. Interaction between the UCP2 -866G>A polymorphism, diabetes, and beta-blocker use among patients with acute coronary syndromes. *Pharmacogenet Genomics*. 2010; 20: 231–238. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2842450/>
30. Andersen G., Dalgaard L.T., Justesen J.M., Anthonen S., Nielsen T., Thorner L.W., et al. The frequent UCP2 -866G>A polymorphism protects against insulin resistance and is associated with obesity: a study of obesity and related metabolic traits among 17636 Danes. *Int J Obes (Lond)*. 2013; 37(2):175–81. Doi: [10.1038/ijo.2012.22](https://doi.org/10.1038/ijo.2012.22).
31. Oktavianthi S., Trimarsanto H., Febinia C.A., Suastika K., Saraswati M.R., Dwipayana P., et al. Uncoupling protein 2 gene polymorphisms are associated with obesity. *Cardiovasc Diabetol*. 2012; 11:41–51. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3412711/>
32. de Souza B.M., Brondani L.A., Bouças A.P., Sortica D.A., Kramer C.K., Canani L.H., et al. Associations between UCP1 -3826A/G, UCP2 -866G/A, Ala55Val and Ins/Del, and UCP3 -55C/T polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: case-control study and meta-analysis. *PLoS One*. 2013; 8(1):e54259. Doi: [10.1371/journal.pone.0054259](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054259).

Поступила 21.06.17

Принята к печати 18.10.17