

9. ВОЗ. Руководство по обеспечению качества питьевой воды. Том 1. Рекомендации. Женева; 2004.
10. Всемирная организация здравоохранения. Available at: <http://www.who.int/ru/>
11. Сергиев В.П., Успенский А.В., Романенко Н.А., Горохов В.В., Супряга В.Г., Старкова Т.В., Черникова Е.А. и др. «Новые и возвращающиеся» гельминтозы как потенциальный фактор социально-эпидемических осложнений в России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2005; (4): 6–8.
12. Скрябин К.И., Шихобалова Н.П., Петров А.М., Левашов М.М. *Строительство гельминтологической науки и практики в СССР. Том 1*. М.: Академия наук СССР; 1962.

References

1. Aslanova M.M., Kuznetsova K.Yu., Morozov E.N. Effective laboratory diagnosis is the basis for monitoring parasitic diseases. *Zdorov'e nasele-niya i sreda obitaniya*. 2016; (1): 34–7. (in Russian)
2. Aslanova M.M., Syskova T.G., Chernikova E.A. Parasitological monitoring as an integral part of epidemiological surveillance of helminthiasis in the Russian Federation. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2014; (1): 13. (in Russian)
3. Water Strategy of the Russian Federation for the period until 2020. Moscow; 2009. (in Russian)
4. Information collection of statistical and analytical materials. Moscow; 2014. (in Russian)
5. Medovyy V.S., Panov S.A., Kuznetsova K.Yu., Aslanova M.M., Shikhbabaeva F.M. Technologies of digital and scanning microscopy for parasitological examination. *Meditsina i vysokie tekhnologii*. 2016; (1): 71–6. (in Russian)
6. Onishchenko G.G. Criteria for the risk of environmental pollution. *Gigiena i sanitariya*. 2003; 82(6): 3–4. (in Russian)
7. Resolution of the Government of the Russian Federation No. 761 «On ensuring the harmonization of Russian sanitary and epidemiological requirements, veterinary-sanitary and phytosanitary measures with international standards». Moscow; 2009. (in Russian)
8. Rakhmanin Yu.A., Zhuravlev P.V., Aleshnya V.V., Panasovets O.P., Artemova T.Z., Zagaynova A.V., et al. Scientific substantiation of the improvement of sanitary-bacteriological monitoring in drinking water use. *Gigiena i sanitariya*. 2014; 93(6): 68–72. (in Russian)
9. WHO. Guidelines for the quality of drinking water. Vol. 1. Recommendations. Geneva; 2004. (in Russian)
10. World Health Organization. Available at: <http://www.who.int/en/>
11. Sergiev V.P., Uspenskiy A.V., Romanenko N.A., Gorokhov V.V., Supryaga V.G., Starkova T.V., Chernikova E.A., et al. «New and recurring» helminthiasis as a potential factor of social and epidemic complications in Russia. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2005; (4): 6–8. (in Russian)
12. Skryabin K.I., Shikhobalova N.P., Petrov A.M., Levashov M.M. *Construction of Helminthological Science and Practice in the USSR. Vol. 1 [Stroitel'stvo gel'mintologicheskoy nauki i praktiki v SSSR. Tom 1]*. Moscow: Akademiya nauk SSSR; 1962. (in Russian)
13. WHO expert committee on biological standardization. World health organization technical report series 658/33. Geneva; 1981.

Поступила 06.03.17
Принята к печати

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 612.12.084

Железняк Е.В., Хрипач Л.В., Князева Т.Д., Коганова З.И., Зыкова И.Е., Гришин Д.А., Ревазова Т.Л.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДФПГ-ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ В НАТУРНОМ ГИГИЕНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва

Метод оценки антиоксидантной активности (АОА) образцов по их способности восстанавливать стабильный радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ-тест) широко применяется в фармакологической и пищевой химии, был использован в ряде работ клиницистов для оценки суммарной активности низкомолекулярных антиоксидантов сыворотки крови, но никогда ранее не применялся в токсикологических и гигиенических исследованиях. Авторами статьи разработана модификация ДФПГ-теста с заменой органического растворителя на водный раствор неионного детергента, совместимый с нативной сывороткой. Модифицированная тест-система апробирована в пяти токсикологических экспериментах на лабораторных животных («Гигиена и санитария». 2016(9): 884–890) и в данном исследовании влияния загрязнений атмосферного воздуха на состояние организма жителей Москвы (142 чел. в возрасте 43,5 ± 11,8 лет). Антиоксидантная активность (АОА) сыворотки крови обследованных лиц, измеренная с помощью ДФПГ-теста, имела близкое к нормальному распределение без половых различий, медленно снижалась с возрастом со скоростью около 0,4 % в год и была связана достоверной положительной связью с содержанием в сыворотке каталитического антиоксиданта – мочевой кислоты ($R = 0,257$; $p = 0,002$). Влияние загрязнений атмосферного воздуха по месту проживания обследованных лиц изучали двумя способами: 1) путем деления территории Москвы на 2 зоны по архивным данным Росгидромета; 2) методом картографической «привязки» адресов проживания лиц к ближайшему из 46-ти маршрутных постов Роспотребнадзора. Не найдено достоверных различий по использованным 12-ти биохимическим показателям состояния организма, включая данные ДФПГ-теста, между жителями двух выделенных зон города. Найдена достоверная связь между АОА сыворотки обследованных жителей в ДФПГ-тесте и среднегодовой содержанием бензола в атмосферном воздухе ($R = 0,342$; $p = 0,00003$) при индивидуальной оценке экспозиций по данным маршрутных постов. По результатам множественного регрессионного анализа, вклады двух основных предикторов величины АОА сыворотки в ее общую дисперсию (содержание в воздухе бензола и содержание в сыворотке мочевой кислоты) были независимыми и составляли 14 и 8,5 % ($p = 0,000002$ и $p = 0,00018$ соответственно).

Ключевые слова: окислительный стресс; сыворотка крови; антиоксидантная активность; 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил; ДФПГ-тест; жители Москвы; загрязнения атмосферного воздуха.

Для цитирования: Железняк Е.В., Хрипач Л.В., Князева Т.Д., Коганова З.И., Зыкова И.Е., Гришин Д.А., Ревазова Т.Л. Использование ДФПГ-теста для оценки антиоксидантной активности сыворотки крови в натурном гигиеническом исследовании. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(10): 982–986. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-10-982-986>

Для корреспонденции: Хрипач Людмила Васильевна, д-р биол. наук, зав. лаб. биохимии с группой иммунологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва. E-mail: lkhrpach@mail.ru

Zheleznyak E.V., Khrpach L.V., Knyazeva T.D., Koganova Z.I., Zyкова I.E., Grishin D.A., Revazova T.L.

DPPH TEST APPLICATION THE FOR EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT SERUM ACTIVITY IN FIELD ENVIRONMENTAL STUDY

Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation

The method of the evaluation of the antioxidant activity (AOA) with a help of stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl test (DPPH test) widely applied in pharmacological and food chemistry, was used also in some clinic investigations for the assessment of the total activity of serum low-molecular-weight antioxidants, but never was applied earlier for

toxicological and environmental studies. We have developed the new modification of DPPH test, by replacing methanol-based incubation medium to non-ionic water detergent solution, compatible with native blood serum. Modified DPPH test was approved in 5 toxicological experiments on laboratory animals (Gig. Sanit., 2016, 9: 884-90) and in the hygienic study of the influence of ambient air pollution on the health state in a cohort of 142 capable Moscow residents (aged of 43.5 ± 11.8 years). As a results of the cohort observation, AOA of human serum in DPPH test had close to the normal distribution without gender differences, the slowly decrease with age by nearly 0.4% per year and was positively associated with serum concentrations of catabolic antioxidant – uric acid ($R=0.257$; $p=0.002$). The influence of outdoor air pollution in the points of the persons permanent homes was studied by 2 methods: 1) dividing Moscow territory into 2 zones accordingly the long-term monitoring of Hydrometeorology and Environmental Monitoring Service; 2) by cartographic adjustment of corresponding home buildings to the nearest of 46 route stations of Moscow Agency for Health and Consumer Rights. No significant differences was found between residents of 2 preferred city zones in 12 used serum biochemical markers, the results of DPPH test including. Significant correlation exposure-response was found between the variables “serum AOA in DPPH test” and “benzene annual outdoor concentration” ($R=0.342$; $p=0.00003$) by individual exposure evaluation according to the data of route stations. Two main independent predictors of serum AOA values in the observed cohort of Moscow residents (outdoor air benzene and serum uric acid concentrations) detected 14 and 8.5 % of AOA total variance ($p = 0.000002$ and $p = 0.00018$ correspondingly).

Key words: oxidative stress; blood serum; antioxidant activity; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH test; Moscow residents; outdoor air pollutions.

For citation: Zheleznyak E.V., Khripach L.V., Knyazeva T.D., Koganova Z.I., Zykhova I.E., Grishin D.A., Revazova T.L. DPPH test application for the evaluation of the antioxidant serum activity in field environmental study. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2017; 96(10): 982-986. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-10-982-986>

For correspondence: Ludmila V. Khripach, MD, PhD, DSci., head of biochemical laboratory with group of immunology, Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: lkhrpach@mail.ru

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

Acknowledgment: The study had no sponsorship.

Received: 20 February 2017

Accepted: 05 July 2017

Введение

Метод оценки антиоксидантной активности (АОА) образцов по их способности восстанавливать стабильный радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ-тест, англ. термин DPPH test) широко применяется в фармакологической и пищевой химии [1]. Раствор ДФПГ в метаноле имеет интенсивный фиолетовый цвет с максимумом поглощения при длине волны 520 нм. При взаимодействии с антиоксидантами ДФПГ отнимает у них электрон, переходя в восстановленную диамагнитную форму бледно-желтого цвета. По скорости снижения оптической плотности в максимуме поглощения радикала можно оценить АОА добавленных в раствор отдельных химических веществ и их сложных смесей.

Биологические образцы тоже можно рассматривать как сложные смеси химических веществ, содержащие определенное количество антиоксидантов – экзогенных (витамины А, С и Е, флавоноиды и некоторые другие вещества, поступающие в организм с пищей) и эндогенных (тиолы и некоторые продукты катаболизма – мочевины, мочевая кислота и билирубин). Суммарная АОА всех этих веществ является одной из важных характеристик мощности неферментативного звена антиоксидантной системы организма и, совместно с антиоксидантными ферментами, определяет его устойчивость к воздействию повреждающих факторов. Для оценки АОА биопроб, в том числе проб сыворотки крови, обычно используют ДФПГ-тест в модификации Глевинда, которая заключается в предварительной депротенизации биологических образцов кислотами или органическими растворителями. Это делается для того, чтобы предупредить артефакты от коагуляции белков метанолом, содержание которого в инкубационной среде должно быть не ниже 60% из-за высокой гидрофобности ДФПГ. ДФПГ-тест в этой модификации был использован при изучении эффектов от введения людям и животным антиоксидантных витаминов [2–4], а также в ряде клинических исследований как один из показателей оксидантного статуса пациентов с коронарной и хронической почечной недостаточностью [5, 6]. Но в целом широкого распространения для работы с биопробами ДФПГ-тест не получил и, в частности, он никогда не применялся в токсикологических и гигиенических исследованиях.

Мы впервые изучили возможности использования ДФПГ-теста в гигиенических исследованиях для оценки АОА сыворотки крови людей и лабораторных животных. Вместо модификации Глевинда мы использовали свою собственную модификацию, в которой инкубационная среда на основе метанола была заменена на мицеллярный водный раствор неионного детергента Brij-

35. В статье [7] подробно описаны кинетические свойства модифицированного метода, его чувствительность к стандартным антиоксидантам и результаты его апробации в пяти токсикологических экспериментах на лабораторных животных (мышьях и крысах) при введении им наночастиц серебра, многоатомных углеродных нанотрубок, сульфата серебра, микродисперсного угля и электролизной пыли. В трех из пяти этих экспериментов мы получили достоверные изменения АОА сыворотки крови животных под влиянием изучаемых повреждающих факторов.

В этой статье мы приводим данные, полученные при апробации модифицированного ДФПГ-теста в натурном гигиеническом исследовании, которое проводилось с целью изучить влияние загрязнений городского атмосферного воздуха на биохимические показатели состояния организма жителей Москвы.

Материал и методы

Для проведения исследования была сформирована выборка жителей Москвы трудоспособного возраста, состоявшая из 142 человек (109 мужчин и 33 женщины). Выборка формировалась из сотрудников одного из московских предприятий, проходивших плановый медосмотр по добровольному медицинскому страхованию. Возраст обследуемых лиц составлял от 20 до 68 лет (медиана 47 лет, Q_{25} – Q_{75} 34–52 года).

Предприятие выбиралось по критерию отсутствия ведомственного жилья, в связи с чем адреса постоянного проживания обследуемых лиц были достаточно равномерно распределены по территории Москвы. Уровни загрязнения атмосферного воздуха химическими соединениями по месту проживания обследуемых лиц оценивали двумя способами:

- 1) делением территории Москвы на 2 зоны;
- 2) картографической «привязкой».

Способ деления территории Москвы на 2 зоны – «относительно благополучную» А и «неблагополучную» Б – происходил в соответствии с архивными данными Московского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (МосЦГМС). Различия между этими зонами в уровнях загрязнения атмосферного воздуха связывают с характерным для Москвы западным переносом (преобладанием северо-западных, юго-западных и западных ветров) в сочетании с особенностями расположения крупных промышленных предприятий. К зоне А были отнесены Северо-Западный, Западный и Юго-Западный административные округа; к зоне Б – Северный, Северо-Восточный, Восточный, Юго-Восточный, Южный и Центральный административные округа. Для математической обработки ре-

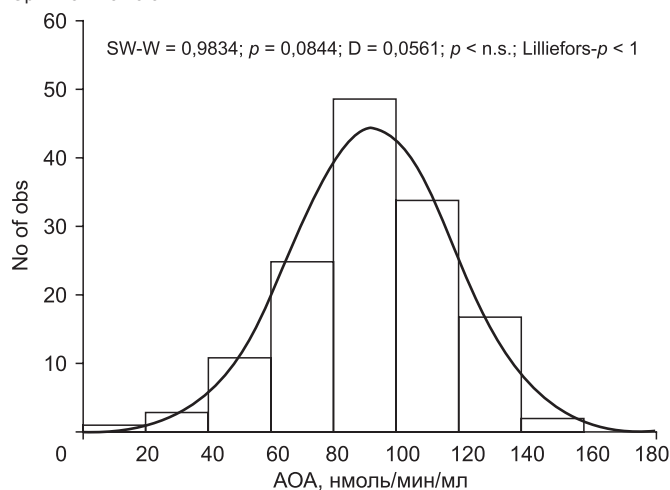


Рис. 1. Гистограмма распределения АОА сыворотки крови в ДФПГ-тесте в выборке обследованных жителей Москвы (N = 142). Критерии нормальности: Шапиро–Уилка (W = 0,9834; p = 0,084); Колмогорова–Смирнова (D = 0,0561; p < n.s.).

зультатов был использован непараметрический метод сравнения независимых выборок (тест Манна–Уитни).

Второй способ оценки загрязнения воздуха осуществлялся с помощью метода картографической «привязки» адреса проживания каждого из обследованных жителей к ближайшему из 46-ти маршрутных постов Роспотребнадзора, нанесенных в виде редактируемого слоя на электронную карту Москвы MosMap v. 3.1 [8]. Среднегодовые концентрации восьми контролируемых загрязнений атмосферного воздуха на соответствующем маршрутном посту (окиси углерода, двуокиси азота, двуокиси серы, взвешенных веществ, суммарных углеводородов, бензола, фенола и формальдегида) использовались в качестве оценок экспозиции. Математическая обработка результатов проводилась с помощью корреляционного и регрессионного методов анализа. Все анализируемые корреляционные связи просматривались на двумерных графиках рассеяния (scatterplots), чтобы исключить потерю более сложных типов ассоциации и отбраковать связи, обусловленные наличием выбросов (outliers). На всех приведенных ниже графиках рассеяния сплошной линией показана линейная регрессионная зависимость, пунктиром – 95%-ные доверительный и предиктивный интервалы.

Скорость восстановления стабильного радикала ДФПГ пробами сыворотки венозной крови обследуемых людей определяли на полуавтоматическом планшетном фотометре Multiskan MS при длине волны 540 нм в инкубационной среде, содержащей 200 мкМ ДФПГ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma D9132) и 50 мМ неионного детергента Brij-35 (Polyoxyethylene-23-lauryl ether, Sigma B4184) [7]. Суммарную АОА проб выражали в наномолях восстановленного радикала ДФПГ за минуту на 1 мл сыворотки.

В пробах сыворотки крови обследуемых лиц определяли также следующие биохимические показатели состояния организма: интенсивность индуцированной перекисью водорода люминол-зависимой хемилуминесценции (ЛЗХЛ) [9], содержание SH-групп по образованию комплекса с дитионитробензойной кислотой [10], активность лизосомальных ферментов N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы (NAG) и катепсина D [11] и ряд стандартных клинико-лабораторных показателей (содержание общего белка, холестерина, глюкозы и мочевой кислоты, активность аланин- и аспартат- аминотрансфераз и щелочной фосфатазы).

Результаты и обсуждение

Характер распределения АОА сыворотки крови в обследованной выборке жителей Москвы. В отличие от другого интегрального показателя оксидантного статуса (интенсивности ЛЗХЛ сыворотки), который в популяции людей имеет резко скошенное влево распределение и нормализуется логарифмической трансформацией [12], АОА сыворотки в ДФПГ-тесте характеризовалась распределением, близким к нормальному. Как это видно из рис. 1, более жесткий тест Шапиро–Уилка «замечал»

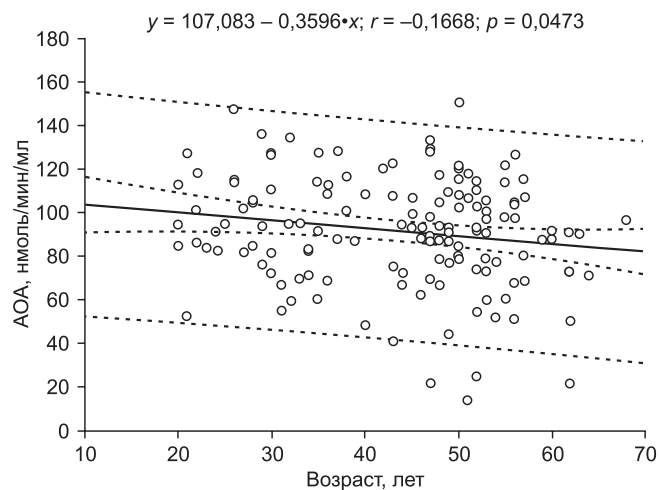


Рис. 2. Зависимость АОА сыворотки крови в ДФПГ-тесте от возраста в выборке обследованных жителей Москвы ($y = 107,08 - 0,36x$; N = 142; R = 0,167; p = 0,047).

некоторую асимметрию гистограммы с небольшим сдвигом вправо (достоверность статистики W уже близка к 0,05), но тем не менее оставлял данное распределение в ряду нормальных.

Влияние пола и возраста на величину АОА сыворотки крови. АОА сыворотки крови в выборке обследованных жителей Москвы не зависела от пола: $91,8 \pm 25,8$ нмол/мин/мл у мужчин (N = 107) и $89,2 \pm 25,3$ нмол/мин/мл у женщин (N = 33), p = 0,62 в тесте Манна–Уитни. Данные приведены в виде M ± SD; сравниваемые подвыборки мужчин и женщин не различались достоверно по возрасту ($43,5 \pm 11,9$ и $43,4 \pm 11,8$ лет, p = 0,879).

Как показано на рис. 2, с возрастом величина АОА сыворотки крови в ДФПГ-тесте медленно снижалась со скоростью около 0,4% в год (p = 0,047).

Связь АОА сыворотки крови в ДФПГ-тесте с другими биохимическими показателями в пробах крови обследованных лиц. Было также обнаружено, что данные ДФПГ-теста в пробах сыворотки крови обследованных лиц связаны достоверной положительной связью с содержанием в сыворотке катаболического антиоксиданта – мочевой кислоты (рис. 3а; R = 0,257; p = 0,002). Близкая по силе и достоверности корреляционная связь между этими же двумя показателями была выявлена ранее польскими клиницистами [5] в выборках пациентов с коронарной болезнью сердца и пациентов группы сравнения с менее серьезными заболеваниями (рис. 3, б).

Таким образом, данные проведенного нами исследования подтверждают, что мочевая кислота как эндогенный антиоксидант катаболического типа вносит свой вклад в дисперсию суммарной АОА тканей организма (около 7% от общей дисперсии, по нашим данным и около 12% – по данным работы [5]). Ни с одним другим из использовавшихся нами показателей, включая маркеры оксидантного равновесия (интенсивность ЛЗХЛ сыворотки и содержание в ней SH-групп), активность лизосомальных ферментов и стандартные клинико-лабораторные биохимические показатели (содержание общего белка, холестерина и глюкозы, активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы), АОА сыворотки в ДФПГ-тесте не имела значимых корреляционных связей или хотя бы тенденций к наличию связи (минимальное значение p = 0,169).

Изучение возможной связи между АОА сыворотки крови обследованных жителей Москвы в ДФПГ-тесте и уровнями загрязнения атмосферного воздуха химическими соединениями по месту их проживания. Разделение Москвы на 2 зоны. Как это описано в разделе «Методы», территория Москвы была разделена на 2 зоны – зону А с более низкими и зону Б с более высокими уровнями загрязнения атмосферного воздуха. В одном из своих прежних исследований мы использовали этот же приём оценки экспозиции загрязнения атмосферного воздуха в выборке жителей Москвы с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и нашли достоверное снижение интенсивности ЛЗХЛ

Достоверности различий между подвыборками А и Б (см. текст) по значениям биохимических показателей, измерявшихся в пробах сыворотки крови. Данные приведены в виде $M \pm SE$, тест Манна–Уитни

Показатели состояния организма	А	Б	<i>p</i>
АОА в ДФПГ-тесте, нмоль/мин/мл	92,4 ± 2,9	90,1 ± 3,1	0,546
Интенсивность ЛЗХЛ, Ig имп/мин	5,40 ± 0,03	5,45 ± 0,03	0,185
Содержание SH-групп, мкмоль/л	395 ± 11	396 ± 11	0,421
Мочевая кислота, мкмоль/л	433 ± 11	415 ± 13	0,275
N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза, нмоль/мин/л	21,4 ± 1,0	19,2 ± 0,7	0,205
Катепсин D, нмоль/мин/мл	3,2 ± 0,1	3,0 ± 0,1	0,480
Общий белок, г/л	75,8 ± 0,4	76,0 ± 0,5	0,634
Общий холестерин, ммоль/л	5,80 ± 0,11	5,62 ± 0,11	0,272
АЛТ, Ед/л	31,9 ± 2,5	27,4 ± 1,7	0,236
АСТ, Ед/л	27,8 ± 1,3	26,3 ± 1,1	0,554
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	144 ± 4	143 ± 4	0,896
Глюкоза, ммоль/л	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1	0,767

табл. 2 и индивидуальные оценки экспозиции восемью загрязнителями атмосферного воздуха, по данным маршрутных постов, т. е. 48 пар переменных, было найдено всего 2 достоверные корреляционные связи «экспозиция–эффект»:

1) между содержанием в атмосферном воздухе бензола и АОА сыворотки в ДФПГ-тесте ($R = 0,379$; $p = 0,000003$; диапазон концентраций бензола от 0,0003 до 0,0696 mg/m^3 при значениях ПДК_{сс} 0,1 mg/m^3 и RfC 0,03 mg/m^3);

2) между содержанием в атмосферном воздухе взвешенных веществ и сывороточной активностью лизосомального фермента NAG ($R = 0,261$; $p = 0,0018$; диапазон концентраций взвешенных веществ от 0,027 до 0,449 mg/m^3 при значениях ПДК_{сс} 0,15 mg/m^3 и RfC 0,04 mg/m^3).

Приведенные коэффициенты корреляции получены с помощью непараметрического теста Спирмена. Для регрессионного анализа связи «бензол–АОА сыворотки» использовали логарифмированные концентрации бензола; полученное уравнение регрессии $y = 119,6 + 12,57 \cdot \log_{10}(x)$ с соответствующими 95% доверительным и предиктивным интервалами показано графически на рис. 4.

Также был проведен многофакторный регрессионный анализ зависимости АОА сыворотки от других переменных (табл. 2), который показал, что двумя основными предикторами данной величины в рамках проведенного обследования являются уровень загрязнения атмосферного воздуха бензолом и содержание в сыворотке мочевой кислоты (стандартизованные частные коэффициенты регрессии 0,371 и 0,293 с $p = 0,000003$ и $p = 0,00018$ соответственно; коэффициент регрессии уравнения в целом составил $R = 0,449$ при значении $F(2,139) = 17,636$ и $p = 10^{-7}$).

Следует отметить, что близкие к единице значения толерантности этих двух предикторов («Tolerance») свидетельствуют об их независимом действии, иными словами, экспозиция бензолом влияет на суммарную АОА сыворотки посредством увеличения

Таблица 2

Конечное уравнение множественной регрессии для зависимой переменной «АОА сыворотки» (метод пошаговой обратной регрессии, выбывший предиктор – возраст обследуемых)

Regression Summary for Dependent Variable: DPPH
 $R = 0,46102678$; $R^2 = 0,21254569$; Adjusted $R^2 = 0,20105001$; $F(2,139) = 18,489$; $p < 0,0000001$
 Tolerance: benzol 0,996167; uric_acid 0,996167

Predictors	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(139)	p-level	Valid N
Intercept	–	–	87,80646	10,24434	8,571219	$2 \cdot 10^{-14}$	–
lg_benzol	0,374606	0,075960	13,04988	2,64617	4,931608	0,000002	142
uric_acid	0,292921	0,075960	0,07701	0,01997	3,856240	0,000176	142

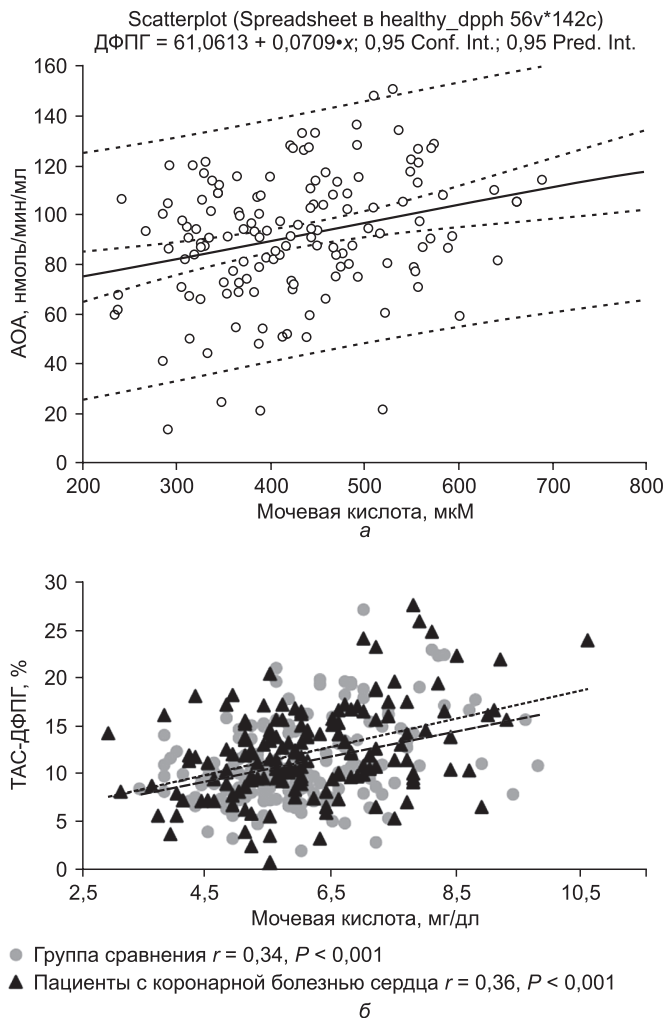


Рис. 3. Зависимость АОА сыворотки в ДФПГ-тесте от содержания в сыворотке мочевой кислоты:

а – в выборке обследованных авторами статьи жителей Москвы ($y = 61,06 + 0,071x$; $N = 142$; $R = 0,257$; $p = 0,002$); б – в выборках пациентов с коронарной болезнью сердца (тёмные значки) и группы сравнения (светлые значки) в работе [5]. Группы по 163 чел. в каждой составлены по принципу копия/пара, средний возраст $56,6 \pm 8,0$ лет. АОА сыворотки в ДФПГ-тесте была определена модификацией Глевинда с преобразованной ацетонитрилом и выражена в процентах ДФПГ, восстановленного за 30 мин. в среде инкубации: 97,5% метанола; 2,5% ацетонитрила. 1 мг/дл мочевой кислоты эквивалентен 59,5 μM .

сыворотки и содержания в ней двух клинически значимых цитокинов (ИЛ-6 и α -ФНО) в подвыборке жителей с ХОБЛ, проживающих в зоне Б с более загрязнённым воздухом [13]. Полученные различия были не только достоверными, но и укладывались в единую патогенетическую картину угнетения поллюгантами функциональной активности фагоцитарных клеток крови.

В данном обследовании смешанной выборки трудоспособных жителей Москвы мы, тем не менее, не нашли различий между жителями зон А и Б по использованным биохимическим показателям состояния организма. Из обследованной выборки объемом 142 чел. в зоне А проживал 81 чел., в зоне Б – 61 чел. Образовавшиеся подвыборки не различались достоверно по половому составу ($p = 0,954$ в критерии χ^2) и возрасту обследуемых (зона А: $44,9 \pm 11,7$ лет; зона Б: $42,0 \pm 11,9$ лет; $p = 0,155$). Не различались они и по средним значениям всех измерявшихся биохимических показателей (табл. 1, минимальное значение $p = 0,185$).

Картографический метод. По результатам корреляционного анализа матрицы данных, включавшей первые 6 биохимических показателей состояния организма обследованных жителей из

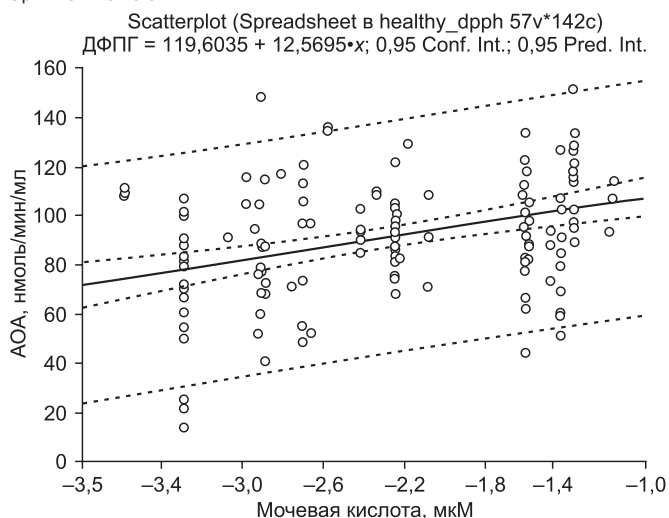


Рис. 4. Регрессионное уравнение зависимости АОА сыворотки обследованных жителей Москвы от среднегодовых концентраций бензола в атмосферном воздухе по месту их постоянного проживания ($y = 119,6 + 12,57 \cdot \log_{10}(x)$; $N = 142$; $R = 0,342$; $p = 0$).

содержания в ней какого-то другого эндогенного антиоксиданта, но не мочевой кислоты.

Не исключено, что таким метаболитом является билирубин (продукт катаболизма гема), содержание которого в сыворотке не контролировалось. В базе Toxnet имеется единственная запись о возможном влиянии бензола на содержание в крови билирубина, формально противоречащая данному предположению – в пробах крови когорты Dow (рабочих компании Dow Chemical, имевших в прошлом профессиональный контакт с бензолом) содержание эритроцитов и уровень билирубина были достоверно снижены по сравнению с контрольной группой [14]. Однако соотношение процессов деградации/репопуляции эритроцитов является сложной функцией и может зависеть как от особенностей экспозиции, так и от чувствительности конкретной выборки людей.

Следует отметить, что корреляционно-регрессионный анализ свидетельствует только о наличии достоверной связи между двумя переменными, но не даёт возможности отличить прямые связи от опосредованных каким-то другим, неучтенным фактором. В частности, в городском атмосферном воздухе содержится широкий спектр различных химических веществ, при этом концентрации отдельных компонентов могут быть тесно связаны друг с другом, если они имеют общий источник или однотипные источники. Поэтому мы не можем в данном случае решительно утверждать, что описанный биологический эффект увеличения АОА сыворотки крови обследованных жителей Москвы обусловлен их экспозицией именно бензолом в изучавшемся диапазоне концентраций, в котором верхняя граница составляла всего 0,7 ПДК_{сс} и 2,3 RfC. По этой же причине полученные нами зависимости не являются указанием на необходимость пересмотра ПДК для бензола или гармонизации его с более высоким значением RfC. Возможно, что реальное влияние на организм обследованных жителей Москвы оказывал какой-то другой, более токсичный поллютант из числа не регистрировавшихся маршрутными постами, концентрации которого в атмосферном воздухе были тесно связаны с концентрациями бензола. Убедиться в том, что впервые выявленная корреляционная связь не относится к опосредованному или случайным, можно только путем демонстрации ее воспроизводимости, в данном случае на других выборках населения, в других городах, при других способах оценки экспозиции и т.п.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература (п.п. 1–6, 10, 14 см. References)

- Хрипач Л.В., Железняк Е.В., Князева Т.Д., Коганова З.И., Салихова Д.И., Гришин Д.А. Методы оценки окислительного равновесия в биологических образцах, основанные на использовании окрашенных модельных радикалов. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(9): 884–90.
- Хрипач Л.В., Князева Т.Д., Скворцова Н.С., Корсунская И.М., Розенталь В.М., Зыкова И.Е. и др. Методологическая схема обследования городского населения с многоуровневыми оценками экспозиции загрязнителями атмосферного воздуха. *Гигиена и санитария*. 2007; 86(5): 65–7.
- Шестаков В.А., Бойчевская Н.О., Шерстнев М.П. Хемилуминесценция плазмы крови в присутствии перекиси водорода. *Вопросы медицинской химии*. 1979; 25(2): 132–7.
- Методические указания к оценке биохимических, морфологических, иммунологических и физиологических показателей ранних изменений функциональных реакций человека при воздействии факторов окружающей среды. М.-Пермь; 1986.
- Хрипач Л.В. Применение свободнорадикальных методов для оценки влияния полихлорированных диоксинов и фуранов на состояние здоровья населения. *Гигиена и санитария*. 2002; 81(2): 72–6.
- Воинова И.В., Хрипач Л.В., Несвижский Ю.В., Мухин Н.А., Гостищев В.К., Лебедева М.В. и др. Изменения цитокинового профиля у жителей с хронической обструктивной болезнью легких при воздействии загрязнений городского атмосферного воздуха. *Гигиена и санитария*. 2012; 91(6): 41–3.

References

- Kedare S.B., Singh R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.* 2011; 48(4): 412–22.
- Babaie M., Yasa N., Mohammadirad A., Khorasani R., Abdollahi M. On the antioxidative stress potential of Zataria multiflora Boiss (Avishan shirazi) in rats. *Int. J. Pharmacol.* 2007; (3): 510–4.
- Hasani P., Yasa N., Vosough-Ghanbari S., Mohammadirad A., Dehghan G., Abdollahi M. In vivo antioxidant potential of Teucrium polium, as compared to α -tocopherol. *Acta Pharm.* 2007; 57: 123–9.
- Godycki-Cwirko M., Krol M., Krol B., Zwolinska A., Kolodziejczyk K., Kasielski M., et al. Uric acid but not apple polyphenols is responsible for the rise of plasma antioxidant activity after apple juice consumption in healthy subjects. *J. Am. Coll. Nutr.* 2010; 29(4): 397–406.
- Gawron-Skarbek A., Chrzczanowicz J., Kostka J., Nowak D., Drygas W., Jegier A., et al. Cardiovascular risk factors and total serum antioxidant capacity in healthy men and in men with coronary heart disease. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 216964.
- Rysz J., Stolarek R.A., Pedzik A., Nowicki M., Nowak D. Serum antioxidant capacity is preserved in peritoneal dialysis contrary to its robust depletion after hemodialysis and hemodiafiltration sessions. *Ther. Apher. Dial.* 2010; 14: 209–17.
- Khripach L.V., Zhelezniak E.V., Knyazeva T.D., Koganova Z.I., Salikhova D.I., Grishin D.A. Methods of oxidative state assessment in biologic samples, based on coloured model radicals. *Gigiena i sanitariya*. 2012; 95(9): 884–90. (in Russian)
- Khripach L.V., Knyazeva T.D., Skvortsova N.S., Korsunskaya I.M., Rozental' V.M., Zykova I.E., et al. A methodological scheme for examination of the urban population, by making multilevel assessments of exposure to ambient air pollutants. *Gigiena i sanitariya*. 2007; 86(5): 65–7. (in Russian)
- Shestakov V.A., Boychevskaya N.O., Sherstnev M.P. Chemiluminescence of blood plasma in the presence of hydrogen peroxide. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1979; 25(2): 132–7. (in Russian)
- Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 82: 70–7.
- Guidelines for the assessment of biochemical, morphological, immunological and physiological markers of early changes in functional reaction of human organism onto environmental factors. Moscow-Perm', 1986.
- Khripach L.V. Determination of free-radical methods for the evaluation of the effects of polychlorinated dioxins and furans on human health. *Gigiena i sanitariya*. 2002; 81(2): 72–6. (in Russian)
- Voinova I.V., Khripach L.V., Nesvizhskiy Yu.V., Mukhin N.A., Gostishchev V.K., Lebedeva M.V., et al. Changes in the cytokine profile in residents with chronic obstructive lung disease exposed to urban air pollutants. *Gigiena i sanitariya*. 2012; 91(6): 41–3. (in Russian)
- Townsend J.C., Ott M.G., Fishbeck W.A. Health exam findings among individuals occupationally exposed to benzene. *J. Occup. Med.* 1978; 20(8): 543–8.

Поступила 20.02.17
Принята к печати 05.07.17