

Оригинальное исследование

ОСТРАВА, ЧЕШСКАЯ РЕСПУБЛИКА: ВОЗДЕЙСТВИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НА ЗДОРОВЬЕ ДЕТЕЙ

Radim J. Sram¹, Antonin Ambroz¹, Miroslav Dostal¹, Katerina Honkova¹, Jana Hajslova², Jana Pulkrabova², Katerina Urbancova², Vit Kosek², Milos Veleminsky Jr.³

¹ Институт экспериментальной медицины CAS, Прага, Чешская Республика

² Факультет пищевых и биохимических технологий, Химико-технологический университет, Прага, Чешская Республика

³ Факультет здравоохранения и социальных исследований, Университет Южной Чехии, а также больница Ческе-Будеевице (СП), Ческе-Будеевице, Чешская Республика

Автор, отвечающий за переписку: Radim J. Sram (адрес электронной почты: sram@biomed.cas.cz)

АННОТАЦИЯ

Введение: Моравскосилезский край (МСК) сильно загрязнен из-за работающих здесь предприятий тяжелой промышленности и местных систем теплоснабжения. Концентрация бенз(а)пирена (БП) в атмосферном воздухе края одна из самых высоких на территории Европейского союза.

Методология: Исследовали влияние загрязненного воздуха на здоровье населения МСК. Здоровье детей изучали в рамках трех исследований: 1) заболеваемость детей; 2) бронхиальная астма у детей; 3) воздействие загрязнения воздуха на геном новорожденных. Проведен анализ заболеваемости детей

на 10 педиатрических участках города Острава. Изучена заболеваемость бронхиальной астмой детей, проживающих в районе Острава-Радванице, и на контрольном участке в Прахатице, Южная Чехия, оценивали профили экспрессии генов. Воздействие загрязнения воздуха на геном новорожденных изучали в районе Карвина (загрязненный район) и в контрольном районе Ческе-Будеевице.

Результаты: У детей-астматиков из Остравы повышенная экспрессия генов соответствовала неаллергическому типу астмы. Зимой 2014 г. концентрации БП составляли $5,36 \pm 3,64$ против $1,45 \pm 1,19$ нг/м³ в Ческе-Бу-

деевице, $P < 0,001$ в Карвине. У новорожденных в Карвине наблюдали увеличение окислительных повреждений, влияющих на пути формирования иммунодефицита и нейротрофиновые пути передачи сигнала, повышенные количества ОН-метаболитов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в моче, а также выявлен рост респираторной заболеваемости у детей в возрасте до двух лет.

Выводы: Исследования, проведенные в Моравскосилезском крае, показывают, что загрязнение атмосферного воздуха оказывает существенное влияние на здоровье детей.

Ключевые слова: ЗАГРЯЗНЕНИЕ ВОЗДУХА, ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ПАУ В МОЧЕ, РЕСПИРАТОРНАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ У ДЕТЕЙ

ВВЕДЕНИЕ

МОРАВКОСИЛЕЗСКИЙ КРАЙ

Моравскосилезский край (МСК) – это плотно населенный промышленный регион в самой восточной части Чешской Республики, территория которого составляет 5428 км², численность населения – 1,21 млн человек (1). МСК расположен в бассейне, ограниченном горами с запада, востока и частично

с юга, и характеризуется частыми колебаниями температуры воздуха зимой. МСК делится на шесть административных районов (с запада на восток): Брунталь, Опава, Нови-Йичин, Острава-город, Карвина и Фридек-Мистек. Карвина является одним из наиболее густонаселенных районов Чешской Республики с плотностью населения 712 человек/км². Начиная со второй половины XVIII века в крае стали заниматься угледобычей, переработкой угля



и металлургией. В настоящее время важнейшими отраслями промышленности в МСК являются металлургия, производство стали и кокса, добыча угля и выработка электроэнергии. Плотность населения МСК обуславливает высокую интенсивность местного автомобильного транспорта и систем теплоснабжения. Примерно 50% жителей края пользуются центральным отоплением, 34% – используют природный газ, 10% – уголь, 3% – электричество и 3% – дрова (2).

Чтобы оценить воздействие загрязненности воздуха на здоровье населения в МСК, мы изучили заболеваемость детей в ходе трех исследований: 1) заболеваемость детей; 2) бронхиальная астма у детей; 3) воздействие загрязнения воздуха на геном новорожденных. Методы, использованные в этих исследованиях, подробно изложены в оригинальных ссылках. В данной статье рассматриваются результаты проведенных исследований.

Население МСК подвергается воздействию высоких концентраций взвешенных частиц $PM_{2.5}$, превышающих стандарт ЕС 25 $\mu\text{г}/\text{м}^3/\text{год}$. Концентрации БП в атмосферном воздухе МСК также в несколько раз превышают стандарт ЕС 1 $\text{нг}/\text{м}^3/\text{год}$ (Рис. 1). В районе Остравы Радванице-Бартовице наблюдаются самые высокие в Чешской Республике концентрации БП. При сравнении загрязненности воздуха в 2010 и 2015 гг. установлено, что концентрации $PM_{2.5}$ в МСК снизились, но, что удивительно, никаких изменений концентрации БП в районе Остравы Радванице-Бартовице не произошло (3).

Среднемесячные концентрации БП в районе Остравы Радванице-Бартовице в зимний период превыша-

ют 20 $\text{нг}/\text{м}^3$, что потенциально может существенно влиять на исход беременности (4), а также на фрагментацию ДНК в сперме (5).

РЕЗУЛЬТАТЫ/ПОДХОД

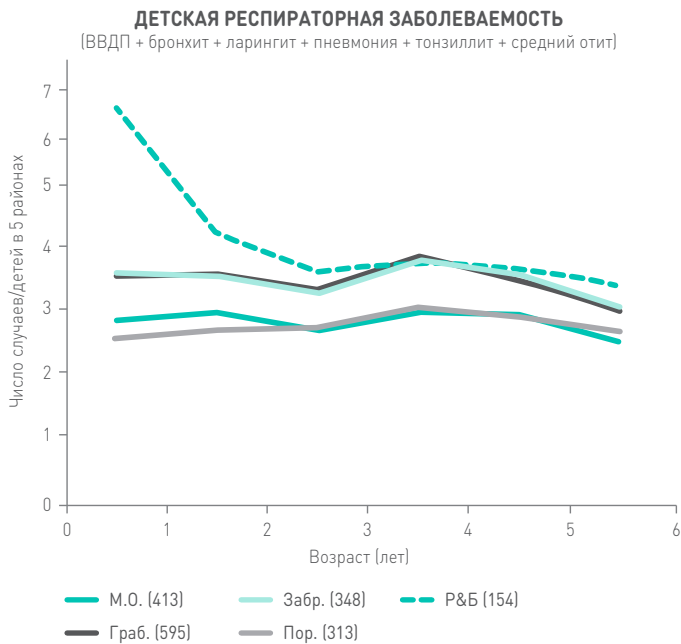
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ СРЕДИ ДЕТЕЙ

На 10 педиатрических участках в городе Острава отслеживалась заболеваемость детей, родившихся в период с 2001 по 2004 г. до достижения ими пятилетнего возраста ($N=1888$) (6). Педиатры анализировали истории болезни в соответствии с кодами Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Сравнение детализированной заболеваемости 1655 детей с разбивкой по возрасту, рожденных и проживающих в районе Остравы Радванице-Бартовице, показало, что частота случаев острых заболеваний у них существенно выше, чем в других районах Остравы. У этих детей наблюдали более высокую частоту случаев острых респираторных заболеваний в первый год жизни (Рис. 2) и более высокую распространенность бронхиальной астмы (37,1%, $N=170$) в сравнении с другими районами Остравы (10,2–13,2%, $N=1287$) (6). От рождения до пятилетнего возраста у детей, проживающих в районе Остравы Радванице-Бартовице, также в несколько раз выше частота случаев пневмонии, тонзиллита, вирусных и кишечных инфекций. Как считают Hertz-Picciotto и др. (7), антенатальное воздействие ПАУ может быть связано с изменением распределения лимфоцитов с различным иммунофенотипом в пуповинной крови и возможными изменениями уровней иммуноглобулина Е в сыворотке крови. Мы можем предположить, что высокие концентрации ПАУ влияют на созревание иммунной системы. По-

РИСУНОК 1. КОНЦЕНТРАЦИИ БЕНЗ(А)ПИРЕНА В ЧЕШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ, 2015 г. (3)



РИСУНОК 2. ДЕТСКАЯ РЕСПИРАТОРНАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ В РАЗЛИЧНЫХ РАЙОНАХ ОСТРАВА-ГОРОДА



(Районы: М.О. – Моравска-Острава, Граб. – Грабувка, Забр. – Забржег, Пор. – Поруба, Р&Б – Радванице/Бардовице)

этому дети из более загрязненного региона чаще страдают респираторными заболеваниями, особенно в первый год жизни.

БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА У ДЕТЕЙ

Задачами этого исследования были оценка влияния загрязнения атмосферного воздуха на экспрессию генов у детей, а также анализ причин, которые могут оказывать какое-либо специфическое воздействие на возникновение и развитие бронхиальной астмы. В частности, мы сравнили профили экспрессии генов в лейкоцитах детей-астматиков и детей без бронхиальной астмы, используя Illumina HumanHT-12 BeadChip. Исследование включало группу из 200 детей (100 астматиков и 100 здоровых детей в возрасте от 6 до 15 лет), проживающих в районе Остравы Радванице-Бартовице, и контрольную группу из 200 детей (100 астматиков и 100 здоровых детей), проживающих в районе Прахатице (Южная Чехия) (8).

Сравнение первых признаков бронхиальной астмы (например, наличие свистящего дыхания) показало, что ее распространенность в Остраве составила приблизительно 60% от числа случаев, диагностированных до достижения ребенком 3,5 лет, в то время как в Прахатице этот показатель не превышал 25%.

Экспрессия генов была проанализирована в 368 пробах, РНК гибридизовали на чипах всего генома с более чем 20 000 кодирующими генами на чип. Образцы оценивали с учетом места проживания ребенка и заболевания (т.е. Острава-астма, Острава-контроль, Прахатице-астма, Прахатице-контроль). Различия в экспрессии генов проверяли с помощью статистических тестов, t-теста и ANOVA. При сравнении детей с учетом их районов проживания и изменений в экспрессии генов >1,5 мы обнаружили 64 deregulированных гена. При сравнении групп Острава-астма и Острава-контроль мы выявили 12 deregulированных генов. Сравнивая группы Прахатице-астма и Прахатице-контроль, мы обнаружили 17 deregulированных генов. С использованием диаграмм Венна было установлено, что гены, специфичные для астмы в Остраве и в Прахатице, полностью различаются, при этом ни один из генов не наблюдался в обоих районах проживания детей. Далее эффект наблюдался для сигнального пути MAPK ($p < 0,01$ в 1,5 раза) в Остраве, а для пути взаимодействия цитокинов-цитокинрецепторов ($p < 0,01$ в 1,5 раза) – в Прахатице.

Отдельные гены были проверены с использованием метода qPCR. Для детей-астматиков из Прахатице результаты показали повышенную экспрессию генов *SIGLEC8*, *CLC*, *CCL23* и *CACNG6* (связь с присутствием эозинофильного воспаления, связанного с аллергическим типом астмы), соответствующую аллергическому фенотипу. У детей из Остравы, больных бронхиальной астмой, повышенная экспрессия генов соответствовала неаллергическим фенотипам *DEFA4* (связь с присутствием нейтрофилов), *AHSP* (стабилизация гемоглобина) и *HBG2* (часть фетального гемоглобина с более высоким сродством к кислороду). Таким образом, возникает вопрос: связана ли повышенная экспрессия генов *HBG2* и *AHSP* у детей Остравы с гипоксией или она обусловлена изменениями в кроветворении. Существенное различие в экспрессии генов наблюдали при сравнении детей из Остравы и Прахатице, что, вероятно, связано с различиями в загрязнении воздуха этих двух районов, особенно БП.

Это исследование является уникальным, поскольку целые геномные микрочипы были впервые использованы для анализа взаимосвязи между загрязнением атмосферного воздуха и бронхиальной астмой. Результаты свидетельствуют о наличии особого

фенотипа астмы у детей, проживающих в загрязненном регионе Остравы, по сравнению с детьми из Прахатице.

Rosnerova и др. (9) изучали у тех же детей метилирование ДНК. Наблюдали значительные различия в 58 CpG сайтах метилирования у детей из Остравы по сравнению с детьми из Прахатице. Метилирование 58 CpG сайтов было более низким у детей из Остравы, что указывает на более высокую экспрессию гена по сравнению с контрольным регионом Прахатице. Характер метилирования у детей-астматиков из разных районов также различался.

Изучение экспрессии генов и метилирования ДНК у детей является новым подходом, который позволяет лучше понять влияние загрязненного воздуха на здоровье человека и оценить значимость индуцированных изменений в заболеваемости детей, а также заболеваемости людей в зрелом возрасте (10).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА НА ГЕНОМ НОВОРОЖДЕННЫХ

В Чешской Республике Моравско-силезский край является регионом, наиболее загрязненным $PM_{2.5}$ и канцерогенными ПАУ, поскольку БП выбрасывается предприятиями тяжелой промышленности и местного теплоснабжения. Воздействие загрязненного воздуха на новорожденных изучали в двух районах: подверженном загрязнению районе Карвина (МСК, Северная Моравия) и контрольном районе Ческе-Будеевице (Южная Чехия). Биологический материал от новорожденных и их матерей собирали в летний и зимний периоды. Этот проект оказался очень сложным. Определяли концентрации ПАУ в (i) атмосферном воздухе и пищевом рационе кормящих матерей; (ii) грудном молоке матерей; (iii) моче матерей и новорожденных; а также (iv) изучали влияние ПАУ на биомаркеры генетического повреждения, такие как ДНК-аддукция и экспрессия генов, биомаркеры окислительного стресса (аддукты 8-oxodG и перекисное окисление липидов).

Пробы были отобраны в отделениях акушерства и неонатологии больницы Ческе-Будеевице и больницы Карвины. Исследование было одобрено Этическим комитетом обеих больниц и Института экспериментальной медицины CAS в Праге. Пробы отбирали при условии прохождения нормальных родов (38–41 неделя+) у некурящих матерей и их

новорожденных в летний и зимний периоды, чтобы учесть разницу в загрязнении атмосферного воздуха. Пробы включали венозную кровь и мочу 99 матерей (лето) и 100 матерей (зима) из Ческе-Будеевице (местность с относительно чистым воздухом), а также 70 матерей (лето) и 73 матерей (зима) из Карвины (местность с высокой загрязненностью воздуха). Кроме того, были отобраны пробы пуповинной крови и мочи 99 новорожденных (лето) и 100 новорожденных (зима) из Ческе-Будеевице, а также 71 новорожденного (лето) и 74 новорожденных (зима) из Карвины.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ВОЗДУХА

Канцерогенные ПАУ, связанные с $PM_{2.5}$, отбирали пробоотборником для больших объемов воздуха (модель ECO-HVS3000, Ecotech, Австралия) на мембранных фильтрах Pallflex (EMFAB, TX40HI20-WW) в течение двух месяцев в период отбора биологических проб (11).

В Карвине концентрация $PM_{2.5}$ была выше, чем в Ческе-Будеевице летом 2013 г. (mean±SD: 20,41±6,28 по сравнению с 9,45±3,62 мкг/м³, $P<0,001$) и зимой 2014 г. (mean±SD: 53,67±19,76 по сравнению с 27,96±12,34 мкг/м³, $P<0,001$). Концентрация БП в Карвине также была выше, чем в Ческе-Будеевице летом 2013 г. (mean±SD: 1,16±0,91 по сравнению с 0,16±0,26 нг/м³, $P<0,001$) и зимой 2014 г. (5,36±3,64 по сравнению с 1,45±1,19 нг/м³, $P<0,001$). В обоих районах концентрации загрязнителей воздуха в зимний период были выше, чем в летний (12).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ 8-OHdG

Окислительное повреждение ДНК оценивали по уровню 8-oxodG (8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine) (13). Уровни 8-oxodG определяли с использованием высокочувствительного набора 8-OhdG Check ELISA (JaICA, Сидзуока, Япония).

В пробах новорожденных из Карвины уровни 8-oxodG были выше, чем в пробах из Ческе-Будеевице (mean±SD: 5,70±2,94 по сравнению с 4,23±1,51 нмоль/ммоль креатинина, $P<0,001$ соответственно). Это согласуется с тем, что концентрация загрязнителей воздуха была выше в Карвине, чем в Ческе-Будеевице. Полученные результаты показывают, что в зимний период уровни 8-oxodG у новорожденных имеют тенденцию к повышению по мере увеличения

концентрации загрязняющих веществ в атмосферном воздухе (12).

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ 15-F2t-ИЗОПРОСТАНА

Уровни 15-F2t-изопростаина (15-F2t-IsoP) в плазме крови определяли с помощью наборов для иммуноферментного анализа от Cayman Chemical Company (Анн-Арбор, Мичиган, США) (14).

Перекисное окисление липидов в пробах, взятых у новорожденных в Карвине в зимний период, было существенно выше в сравнении с пробами, взятыми летом (15-F2t-IsoP, mean±SD: 104,26±38,18 по сравнению с 64,24±26,75 пг/мл плазмы $P < 0,001$ соответственно).

Когда мы отдельно проанализировали влияние загрязненного атмосферного воздуха на окислительный стресс у новорожденных в районе Карвина, результаты многомерного регрессионного анализа показали, что концентрация $PM_{2.5}$ является значимым предиктором уровня 8-oxodG. Было установлено, что воздействие $PM_{2.5}$ и БП является значимым предиктором индукции перекисного окисления липидов (12).

ПРОФИЛИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЗАГРЯЗНЕННОГО ВОЗДУХА

При анализе изменений профиля экспрессии генов в группах, включавших 231 новорожденного из Карвины и Ческе-Будеевице, выявлено несколько специфических генов для зимнего и летнего периодов. РНК выделяли из замороженной пуповинной крови и гибридовали на Illumina HumanHT-BeaChip. В этом уникальном исследовании сравнивали изменения целых геномов, вызванные у новорожденных загрязнением воздуха ко времени родов. Различия в экспрессии генов устанавливали с использованием t-теста и ANOVA. С помощью линейной модели выявлены deregulated гены, а затем проведено сравнение исследуемых групп. Наблюдали различия в экспрессии генов $>1,5$ (повышение экспрессии) и $<0,67$ (снижение экспрессии) для 75 специфических генов у новорожденных из Карвины в сравнении с новорожденными из Ческе-Будеевице и 127 специфических deregulated генов у новорожденных из Карвины при сопоставлении проб

зимнего и летнего периодов. Эти группы генов были проанализированы с позиции функциональной аннотации биохимических путей, и нами были выявлены пути, специфические для районов проживания и времени года (15).

Существенному воздействию были подвержены пути первичного иммунодефицита (пять генов на пути, $p < 0,05$ в Карвине зимой в сравнении с Ческе-Будеевице зимой) или нейротрофиновый сигнальный путь (девять генов, $p < 0,07$ в Карвине зимой в сравнении с ситуацией летом). Воздействие на нейротрофиновый сигнальный путь может играть важную роль в развитии нейронов в головном мозге, поскольку решающий ген пути *BDNF* (нейротрофический фактор головного мозга) кодирования протеинов воздействует на дифференциацию, рост и выживание нейронов. Недавнее исследование описывает снижение плацентарной экспрессии *BDNF* с повышением внутриутробного воздействия $PM_{2.5}$ (16). Воздействие на процессы нейроразвития может приводить к возникновению эпилепсии, нейродегенеративных заболеваний или негативно влиять на память (17). Снижение экспрессии *BDNF* было выявлено с использованием метода qPCR для Карвины (снижение в 2,1 раза зимой и в 1,9 раза – летом) в сравнении с Ческе-Будеевице. С помощью других deregulated генов мы наблюдали повышенную экспрессию *IL10* (интерлейкина 10) в Карвине зимой в сравнении с ситуацией летом (FC 1,73, $p < 0,01$), что может свидетельствовать о более высокой активности воспалительных иммунных процессов.

С использованием многомерного регрессионного анализа выявлено 3865 генов, которые коррелируют с данными о воздействии загрязнений атмосферного воздуха ($PM_{2.5}$ и БП). Один значимый (0,51, $p < 0,001$) ген *CHD8* (Homo sapiens chromodomain helicase DNA binding protein 8) был выявлен в связи с БП. *CHD8* является репрессором транскрипции путем ремоделирования структуры хроматина, особенно при развитии плода. Одно из проведенных исследований (18) показало, что мутация гена *CHD8* ассоциирована с повышенным риском расстройств аутистического спектра (ASD), и это подтверждает гипотезу о том, что *CHD8* может играть центральную роль в развитии нейрональных клеток и предопределять риск развития ASD.

АНАЛИЗ НА НАЛИЧИЕ ОН-ПАУ В МОЧЕ

Мочу матерей и их новорожденных анализировали на наличие моногидроксилированных метаболитов ПАУ (ОН-ПАУ) (19). Хотя содержание Σ ОН-ПАУ в моче, собранной и в Карвине и в Ческе-Будеевице в летний период, было сопоставимо, пробы, собранные в Карвине в зимний период, показали в 1,5 раза более высокие уровни маркеров воздействия. Содержание Σ ОН-ПАУ в пробах мочи, взятой у новорожденных из высокоиндустриальной Карвины в зимний период, были в 1,5 раза выше, чем в пробах, собранных летом, и в 3,3 раза выше по сравнению с пробами мочи новорожденных из Ческе-Будеевице, который является менее загрязненным районом. Вероятно, это связано с загрязнением атмосферного воздуха выбросами предприятий тяжелой промышленности и систем местного теплоснабжения (рис. 3).

АНАЛИЗ ЛИПИДОМА ПЛАЗМЫ

В дополнение к «классическим» параметрам, изученным в рамках предыдущих исследований, в этом случае был применен новый подход, осно-

ванный на нецелевом метаболическом фингер-принтинге. Задача состояла в том, чтобы получить более полную информацию о воздействии загрязненного воздуха на людей. По существующим оценкам, в человеческом метаболоме содержится около 3000 эндогенных или общих метаболитов (по определению это все низкомолекулярные соединения массой до 1500 Da, встречающиеся в тканях или биологических жидкостях). В рамках этого исследования изучали липидом, состоящий из различных классов липидов, поскольку они доминируют в плазме крови человека. Следует отметить, что в целом по своей природе метаболом очень подвижен: малые молекулы постоянно поглощаются, синтезируются, распадаются, взаимодействуют с другими молекулами как внутри биологических систем, так и между ними, а также с внешней средой.

Плазму крови матерей и новорожденных анализировали (после депротеинизации) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ–МСВР). Полученные данные были подвергнуты многомерному статистическому анализу с целью обнаружения паттернов – соединений, специфических для проб, отобранных из разных районов проживания и в разное время года. Помимо очевидных различий между липидомом матерей и новорожденных было выявлено несколько других паттернов. Наиболее выраженное различие в группах матерей и новорожденных связано со временем года, в то время как влияние района проживания было незначительным. В качестве примера на Рис. 4 показана разбивка новорожденных по группам в зависимости от района их проживания в зимний период. Одним из ключевых соединений (но не единственным), способствующих разделению этих двух групп, является гидроксизикозатетраеновая кислота. Концентрация этого метаболита была ниже предела обнаружения в плазме крови новорожденных из Ческе-Будеевице, но значительно выше в плазме/сыворотке крови новорожденных из Карвины. Вероятной причиной может быть повышенный уровень окислительного стресса в Карвине в зимний период. Так или иначе, исследование этого сложного факта продолжается (20).

РИСУНОК 3. КОНЦЕНТРАЦИИ (НГ/Г КРЕАТИНИНА) ОН-ПАУ, ВЫЯВЛЕННЫЕ В ПРОБАХ МОЧИ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ

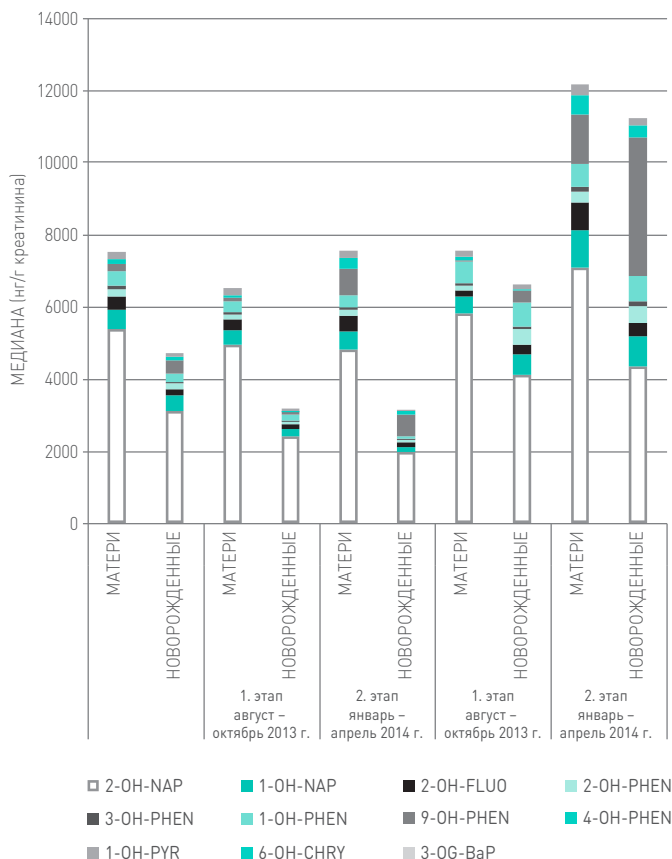
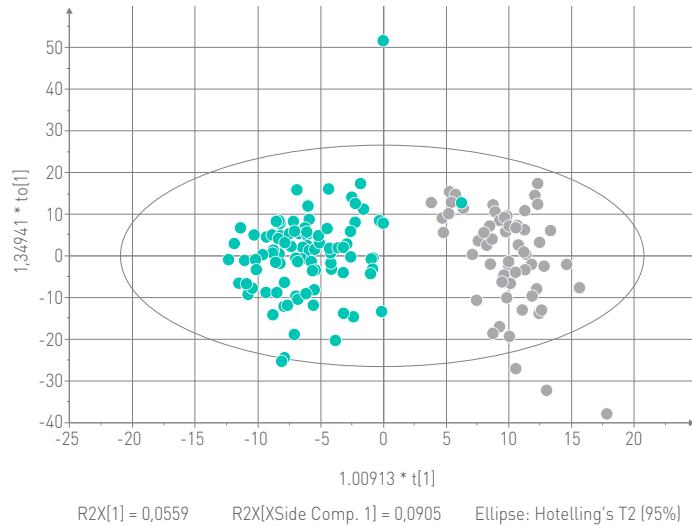


РИСУНОК 4. СТАТИСТИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАБОРА ПРОБ, ВЗЯТЫХ У НОВОРОЖДЕННЫХ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД: ПРОБЫ, СОБРАННЫЕ В ЧЕСКЕ-БУДЕЕВИЦЕ, ОБОЗНАЧЕНЫ ЗЕЛЕНЫМ ЦВЕТОМ; ПРОБЫ, СОБРАННЫЕ В КАРВИНЕ, – СЕРЫМ

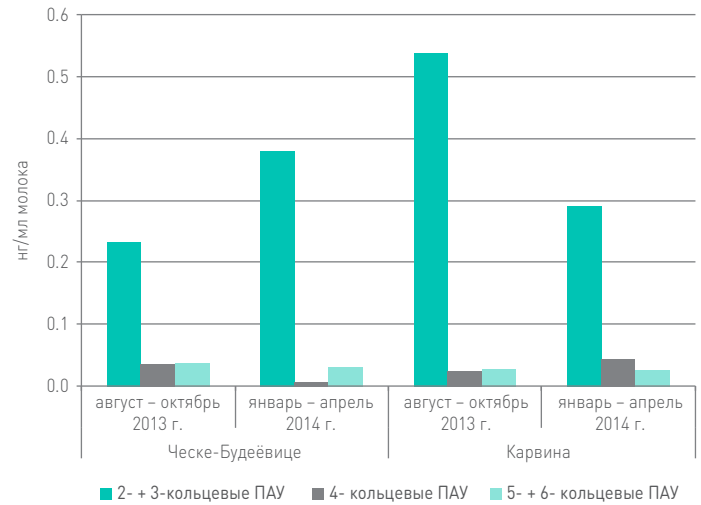


ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАУ В ГРУДНОМ МОЛОКЕ И ПИЩЕВОМ РАЦИОНЕ КОРМЯЩИХ МАТЕРЕЙ

Определяли основные полициклические ароматические углеводороды (24 ПАУ) в пробах грудного молока (21). Результаты этого уникального исследования сосредоточены на критической оценке воздействия загрязнения воздуха ПАУ в Ческе-Будеевице и Карвине в летний и зимний периоды на контаминацию грудного молока, собранного у проживающих в этих районах кормящих матерей. Что касается канцерогенных ПАУ, то БП был выделен только в 19 из 324 проанализированных проб, что составляет порядка 0,4% от общего содержания ПАУ. При сопоставлении данных за зимний и летний периоды применительно к обоим районам проживания более высокие концентрации были выделены в зимних пробах (Рис. 5). На рисунке показано также значительное различие между районами, где был произведен отбор проб. Более высокие концентрации ПАУ были обнаружены в пробах грудного молока матерей, проживающих в Карвине, что соответствует содержанию ПАУ в атмосферном воздухе, но профили ПАУ в обоих районах были очень схожи.

В дальнейшем полученные данные были использованы для расчета вклада ПАУ, поступающих с пищей, в их общее содержание в организме. Доли

РИСУНОК 5. СОПОСТАВЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ПАУ В ГРУДНОМ МОЛОКЕ КОРМЯЩИХ МАТЕРЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЙОНА ИХ ПРОЖИВАНИЯ И СЕЗОНА ОТБОРА ПРОБ



(2- + 3-кольцевые ПАУ: NA, AC, ACL, FL, PHE, AN; 4-кольцевые ПАУ: FA, PY, BaA, CHR, BcF, 5MC; 5- + 6-кольцевые ПАУ: BbFA, BkFA, BjFA, BaP, DBahA, IP, BghiP, CPP, DBaP, DBaP, DBaP, DBaP)

отдельных соединений ПАУ, поступающих в организм с пищей, существенно различались, и летом на них приходилось от 50% до 95% от общего их содержания в организме. Зимой в высокозагрязненном промышленном районе Карвина доминирующим путем поступления соединений ПАУ в организм человека, несомненно, является вдыхание воздуха. Образ жизни может оказывать влияние на неблагоприятный исход беременности. Например, известно о вредном воздействии курения и пассивного курения (22), и чехи понимают, что беременным женщинам не следует курить. Эта привычка определяется также уровнем образования и социальными нормами.

Еще одним маркером здорового образа жизни является рацион питания. Недавнее исследование качества питания беременных женщин в Ческе-Будеевице показало, что питательная ценность потребляемых ими продуктов является низкой. Так, потребление овощей составило 22,8% от рекомендуемых суточных норм, фруктов – 61,8%, а молока – 30,2%. В данном исследовании реальные пробы рациона питания матерей (10 – летом 2013 г. и 10 – зимой 2014 г.), составлявшие 25% потребляемой в сутки пищи, отбирались в течение 7 дней и 2 недель до предполагаемого срока родов. Качество материнского рациона питания и потребление овощей име-

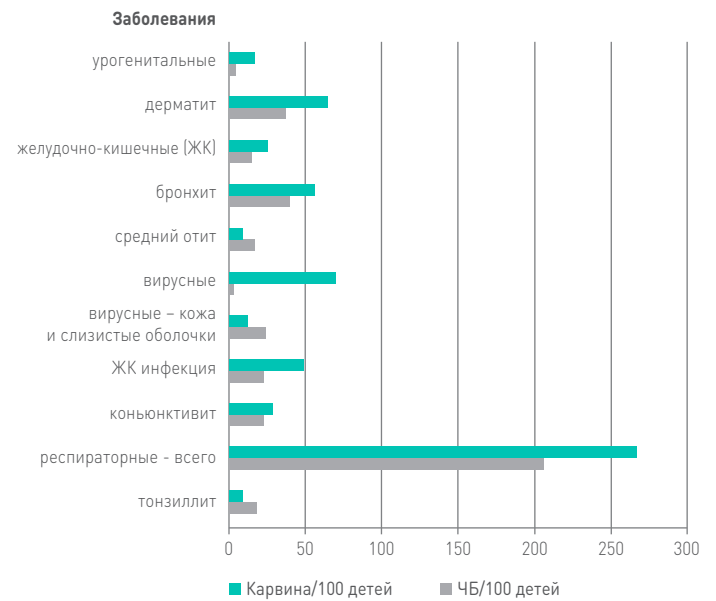
ли отрицательную корреляцию с уровнями аддукта ДНК у новорожденных (23). Эти результаты подтверждают, что достаточное потребление антиоксидантов может улучшить механизм детоксикации ПАУ у беременных женщин (10).

ДЕТСКАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ

Проведено сравнение постнатального развития и заболеваемости детей, родившихся и проживающих в районах Карвина и Ческе-Будеевице, в период от рождения до достижения двухлетнего возраста. Согласие будущих матерей на проведение исследования было получено во время их поступления в акушерские отделения больниц в Ческе-Будеевице и Карвине. Успешно проведено постнатальное наблюдение за 179 детьми (из 216), приписанными к 48 педиатрическим кабинетам в Ческе-Будеевице, и за 121 ребенком (из 148), приписанным к 28 педиатрическим кабинетам в Карвине. В исследовании приняли участие 28 педиатров и их медицинских сестер из Карвины и 48 – из Ческе-Будеевице. При посещении педиатрических кабинетов были составлены списки детей, отнесенных к когорте новорожденных, а также педиатрам и матерям были розданы вопросники. Они были заполнены на 178 детей в Ческе-Будеевице и на 126 детей – в Карвине. В ходе сопоставительной оценки постнатального развития детей (масса тела, рост и окружность головы в возрасте 3, 6, 12 и 18 месяцев) не было выявлено различий между детьми этих районов. Для анализа детской заболеваемости диагнозы детей, представленные в соответствии с кодами МКБ-10, были сгруппированы в 20 классов. Пятью наиболее частыми заболеваниями детей в первые 24 месяца их жизни были желудочно-кишечные инфекции, дерматиты, тонзиллиты, вирусные инфекции кожи и слизистых оболочек, а также вирусные заболевания. Самая низкая частота случаев заболевания наблюдалась в первые шесть месяцев. Различия в показателях заболеваемости в зависимости от времени года рождения детей были незначительными. Наибольшая частота случаев заболевания приходилась на диагнозы, связанные с инфекциями верхних дыхательных путей (J00, J02, J04, J05 и J06). Частота случаев урогенитальных заболеваний, дерматитов, вирусных заболеваний, а также инфекций желудочно-кишечного тракта и заболеваний верхних дыхательных путей в пересчете на 100 детей была статистически значимо выше у детей, проживающих в Карвине, чем у детей из Ческе-Будеевице. С уче-

том других исследований детской заболеваемости, включая предыдущее исследование в рамках программы UFIREG Европейского союза (24), можно заключить, что приведенные выше результаты – следствие более загрязненной среды в районе Карвина. Тем не менее эта гипотеза нуждается в дальнейшем подтверждении, включая изучение влияния домашних и семейных факторов (25).

РИСУНОК 6. ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ДО ДВУХ ЛЕТ В РАЙОНАХ КАРВИНА И ЧЕСКЕ-БУДЕЕВИЦЕ



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные в Моравско-силезском крае исследования выявили значительное влияние загрязненности воздуха на здоровье детей. За последние годы были получены новые и оригинальные результаты в отношении:

- изменений в экспрессии генов у детей-астматиков из-за повышенных концентраций БП в атмосферном воздухе;
- увеличения окислительных повреждений у новорожденных;
- воздействия загрязненности воздуха на нарушения экспрессии генов, влияющие на пути формирования иммунодефицита и нейротрофиновые пути передачи сигнала;

- d) воздействия содержащихся в загрязненном воздухе ПАУ на содержание их ОН-метаболитов в моче;
- e) воздействия загрязнения атмосферного воздуха на метаболический фингерпринтинг;
- f) влияния загрязненного воздуха на рост респираторной заболеваемости детей в возрасте до двух лет.

Выражение признательности: это исследование осуществлено при поддержке со стороны Грантового агентства Чешской Республики (#13-13458S). Авторы выражают глубокую признательность д-ру Radek Susil, заместителю директора больницы в Карвина-Рай, и д-ру Bretislav Schon, директору больницы в Ческе-Будеевице. Это исследование было бы невозможным без тесного сотрудничества со всеми акушерами, педиатрами, медицинскими сестрами и сотрудниками лабораторий в обеих больницах, а также с педиатрами Острава-города и районов Карвина, Ческе-Будеевице и Прахатице.

Источники финансирования: не указаны.

Конфликт интересов: не указан.

Ограничение ответственности: авторы несут самостоятельную ответственность за мнения, выраженные в данной публикации, которые не обязательно представляют решения или политику Всемирной организации здравоохранения.

Список сокращений: ASD – расстройства аутистического спектра; БП – бенз(а)пирен; *BDNF* – нейротрофический фактор мозга; 15-F_{2t}-IsoP – 15-F_{2t}-изопростан (маркер перекисного окисления липидов); МСК – Моравскосилезский край; 8-oxodG – 8-охо-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine; ОН-ПАУ – моногидроксилированные метаболиты ПАУ; PM_{2.5} – твердые частицы аэродинамического диаметра <2,5 мкм; ПАУ – полициклические ароматические углеводороды.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Чешское статистическое управление, 2016 г.: (<http://www.czso.cz>, по состоянию на 4 мая 2017 г.)
2. CENIA. Czech Environmental Information Agency, State of the Environment in Different Regions of the Czech Republic in 2009, CENIA 2011.
3. CHMI 2016 (http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/uoco/isko/tab_roc/tab_roc_EN.html, по состоянию на 7 января 2017 г.)
4. Dejmek J, Solanský I, Beneš I, Leníček J, Šrám R J. The impact of polycyclic aromatic hydrocarbons and fine particles on pregnancy outcome. *Environ Health Perspect.* 2000;108:1159-1164.
5. Rubes J, Rybar P, Prinosilova P, Vezník Z, Chvatalova I, Solansky I, et al. Genetic polymorphisms influence the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. *Mutat Res.* 2010;683:9-15.
6. Dostal M, Pastorkova A, Rychlik S, Rychlikova E, Svecova V, Schallerova E, et al. Comparison of child morbidity in regions of Ostrava, Czech Republic, with different degrees of pollution: a retrospective cohort study. *Environ Health.* 2013;12(1):74.
7. Hertz-Picciotto I, Baker R J, Yap P S, Dostál M, Joad J P, Lipsett M, et al. Early childhood lower respiratory illness and air pollution. *Environ Health Perspect.* 2007;115:1510-1518.
8. Libalova H, Dostal M, Sram R J. Study of gene expression in asthmatic children living in localities with different extent of air pollution. *Ochrana Ovzduši.* 2011;23:13-17. на чешском языке.
9. Rossnerova A, Tulupova E, Tabashidze N, Schmuczerova J, Dostal M, Rossner P, et al. Factors affecting the 27K DNA methylation pattern in asthmatic and healthy children from locations with various environments. *Mutat Res.* 2013;741-742:18-26.
10. Sram RJ, Binkova B, Dostal M, Merkerova-Dostalova M, Libalova H, Milcova A, et al. Health impact of air pollution to children. *Int J Hyg Environ Health.* 2013;216:533-540.
11. Topinka J, Rossner P, Jr Milcova A, Schmuczerova J, Svecova V, Sram R J. DNA adducts and oxidative DNA damage induced by organic extracts from PM_{2.5} in an acellular assay. *Toxicology Letters.* 2011;202:186-92.
12. Ambroz A, Vlkova V, Rossner P, Jr, Rossnerova A, Svecova V, Milcova A, et al. Impact of air pollution on oxidative DNA damage and lipid peroxidation in mothers and their newborns. *Int J Hyg Environ Health.* 2016;219:545-556.
13. Rossner P, Jr, Mistry V, Singh R, Sram R J, Cooke M S. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine values determined by a modified ELISA improves agreement with HPLC-MS/MS. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;440(4):725-30.

14. Rossner P, Jr, Svecova V, Milcova A, Lnenickova Z, Solansky I, Sram R J. Seasonal variability of oxidative stress markers in city bus drivers - Part II: Oxidative damage to lipids and proteins. *Mutat Res.* 2008;642(1-2):21-7.
15. Honkova K, Rossnerova A, Pavlikova J, Gmuender H, Svecova V, Veleminsky M, Jr, Sram RJ. Analysis of gene expression profile in newborns from districts with different level of air pollution. Poster, 47 Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society, September 24-28, 2016, Kansas City, USA.
16. Saenen ND, Plusquin M, Bijlens E, Janssen BG, Gyselaers W, Cox B, et al. In Utero Fine Particle Air Pollution and Placental Expression of Genes in the Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling Pathway: An ENVIRONAGE Birth Cohort Study. *Environ Health Perspect.* 2015;123:834-40.
17. Mitre M, Mariga A, Chao MV. Neurotrophin signalling: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond).* 2017;131:13-23.
18. Stolerman ES, Smith B, Chaubey A, Jones JR. CHD8 intragenic deletion associated with autism spectrum disorder. *Eur J Med Genet.* 2016;59:189-94.
19. Urbancova K, Lankova D, Rossner P, Rossnerova A, Svecova V, Tomaniova M, et al. Evaluation of 11 polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in urine of Czech mothers and newborns. *Sci Total Environ.* 2017;577:212-219.
20. Kosek V, Pulkrabova J, Sram R, Hajslova J. Analysis of plasma lipidome in mothers and newborns from differently burdened regions. Conference. Impact of air pollution 2016 to human health, Czech Academy of Sciences, December 7, 2016, Prague, Czech Republic.
21. Pulkrabova J, Stupak M, Svarcova A, Rossner P, Rossnerova A, Ambroz A, et al. Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk. *Sci Total Environ.* 2016;562:640-647.
22. Dejmek J, Solansky I, Podrazilova K, Sram R J. The exposure of non-smoking and smoking mothers to environmental tobacco smoke during different gestational phases and fetal growth. *Environ Health Perspect.* 2002;110:601-606.
23. Honkova K, Pavlikova J, Rossnerova A, Rossner P, Milcova A, Topinka J, et al. Quality of diet of pregnant mothers and its effect on DNA damage in newborns. Proceedings of the 44th Annual Meeting of European Environmental Mutagenesis and Genomics Society, August 23-26, 2015, Prague, Czech Republic, p. 203.
24. Lanzinger S, Schneider A, Breitner S, Stafoggia M, Erzen I, Dostal M, et al. UFIRES study group. Ultrafine and fine particles and hospital admissions in Central Europe: Results from the UFIRES study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;194:1233-1241.
25. Dostal M, Pastorkova A, Sram RJ. Morbidity of children up to 2 years of age in the districts of Karvina and Ceske Budejovice. Conference. Impact of air pollution 2016 to human health, Czech Academy of Sciences, December 7, 2016, Prague, Czech Republic.