

Казакова О.А.¹, Долгих О.В.^{1,2,3}, Синицына О.О.⁴

Иммунный и генетический статус женщин с нарушениями репродуктивной сферы при контаминации биосред фенолами

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь;

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614990, Пермь;

³ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614990, Пермь;

⁴Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Институт комплексных проблем гигиены, отдел гигиены питьевого водоснабжения и охраны водных объектов, 141000, Мытищи

Введение. Гормоноподобные вещества, такие как фенолы, способны встраиваться в работу системы гипоталамус-гипофиз-яичники, запуская каскад реакций, в конечном итоге приводящий к нарушению работы иммунной и эндокринной систем, формируя особенности репродуктивных нарушений у женщин фертильного возраста.

Материал и методы. Проведено изучение иммунологических и генетических показателей 181 женщины, постоянно проживающей на территории, характеризующейся наличием фенолов в атмосферном воздухе выше нормативных уровней, что сформировало избыточный по отношению к референтному (0,016 мг/см³) уровень контаминации биосред (кровь) фенолом и определило особенности репродуктивных нарушений. Все женщины были сопоставимы по возрасту, материальному статусу и этнической принадлежности. Иммунологические и гормональные показатели определялись методом иммуноферментного анализа, генетические маркёры – методом полимеразной цепной реакции. Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 10.0 с использованием методов параметрической и непараметрической статистики.

Результаты. В результате проведённых исследований установлены значимые различия между исследуемыми группами по уровням показателей иммунной и нейроэндокринной регуляции: тиреотропный гормон, серотонин, интерлейкин-6 и 10, эстрадиол, а также выявлена достоверная зависимость развития нежелательных эффектов от наличия аллелей генов кандидатов репродуктивных нарушений. У женщин с нарушениями репродуктивной сферы, контаминированных фенолом, установлено угнетение экспрессии выступающего в качестве провоспалительного цитокина интерлейкина-6 с одновременной гиперпродукцией противовоспалительного интерлейкина-10, что характерно для иммунотоксического и иммуносупрессивного эффекта фенола. У женщин с невынашиванием беременности получены результаты, указывающие на известный феномен дисбаланса фенолом эстрадиоловой активности, а также на катехоламиную супрессию, выражающуюся в угнетении экспрессии серотонина. Установлена достоверная ассоциация аллелей кандидатных генов с развитием нарушений репродуктивной сферы в виде невынашивания беременности у женщин с избыточной контаминацией биосред фенолом – А-аллель гена сульфотрансферазы SULT1A1, G-аллель гена десинхроноза PER2, С-аллель гена молодости сиртуина SIRT1. Получены достоверные модели корреляционной зависимости значений иммунологических и эндокринных показателей от уровня контаминации биосред фенолами: «ТТГ, серотонин – фенол в крови»; «ТТГ, серотонин, эстрадиол – крезолы в крови».

Заключение. Совокупность выявленных маркёров – избыточные концентрации фенолов в биосредах, полиморфные аллели генов-кандидатов (ген SIRT, ген PER2, ген SULT1A1), измененная экспрессия ассоциированных с ними протеинов и рецепторов, формируют особенности течения и прогноза патологии невынашивания.

К л ю ч е в ы е с л о в а : фенол; репродуктивные нарушения; ген SIRT; ген PER2; ген SULT1A1.

Для цитирования: Казакова О.А., Долгих О.В., Синицына О.О. Иммунный и генетический статус женщин с нарушениями репродуктивной сферы при контаминации биосред фенолами. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (1): 90-96. DOI: <http://dx.doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-90-96>

Для корреспонденции: Долгих Олег Владимирович, доктор мед. наук, зав. отдела иммунобиологических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь. E-mail: oleg@fcrisk.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Казакова О.А., Долгих О.В.; сбор и обработка материала – Казакова О.А.; статистическая обработка – Казакова О.А.; написание текста – Казакова О.А., Долгих О.В.; редактирование – Долгих О.В., Синицына О.О.; утверждение окончательного варианта статьи – Долгих О.В., Синицына О.О.; ответственность за целостность всех частей статьи – Долгих О.В.

Поступила: 09.10.19

Принята к печати: 12.12.19

Опубликована: 27.02.2020

Kazakova O.A.¹, Dolgikh O.V.^{1,2,3}, Sinitsyna O.O.⁴**Immune and genetic status of women with reproductive disorders in the conditions of exposed contamination of biological media with phenols**¹Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management, Perm, 614045, Russian Federation;²Perm state national research University, Perm, 614990, Russian Federation;³Perm National Research Polytechnic University, Perm, 614990, Russian Federation;⁴Institute of complex problems of hygiene F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene, Moscow region, Mytishchi, 141000, Russian Federation**Introduction.** A Hormon-like agent such as phenol is able both to integrate into the work of hypothalamus-pituitary-ovary system and trigger a cascade of responses that leads to the development of the immune, hormonal and endocrine systems disorder.**Material and methods.** The study included 181 woman who permanently live in the area with contamination with phenol in air above standard level. All women are comparable in age, material status and ethnicity. Immunological and hormonal indices were determined by enzyme immunoassay, genetic markers were detected by polymerase chain reaction. Statistical data processing was carried out with the software Statistica 10.0, using parametric and non-parametric methods.**Results.** Between the study groups there were obtained significant differences in following markers: thyroid-stimulating hormone, serotonin, interleukin 6, interleukin 10, estradiol. The dependence of appearance of unfavorable reproductive effects on the presence of polymorphic allele's was determined: A allele of a gene SULT1A1, G allele of a gene PER2, C allele of a gene SIRT1. Correlation models are defined: thyroid-stimulating hormone and phenol, serotonin and phenol, thyroid-stimulating hormone and cresol, serotonin and cresol, estradiol and cresol.**Conclusion.** All found markers (increased concentration of phenol in biological media, gene polymorphism, altered protein and receptor expression) create special conditions for the course of the miscarriage pathology.*Key words:* phenol; reproductive disorders; SIRT gene; PER2 gene; SULT1A1 gene.**For citation:** Kazakova O.A., Dolgikh O.V., Sinitsyna O.O. Immune and genetic status of women with reproductive disorders in the conditions of contamination of biological media with phenols. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2020; 99 (1): 90-96. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-90-96>**For correspondence:** Oleg V. Dolgikh, MD, Ph.D., DSci., Head of the Department immunological methods of diagnosis Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: oleg@fcrisk.ru**Information about authors:**Kazakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-0114-3930>; Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>; Sinitsyna O.O., <https://orcid.org/0000-0002-0241-0690>**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.**Contribution:** study concept and design - Kazakova O.A., Dolgikh O.V.; material collection and processing - Kazakova O.A.; statistical processing - Kazakova O.A.; writing - Kazakova O.A., Dolgikh O.V.; editing - Dolgikh O.V., Sinitsyna O.O.; approval of the final version of the manuscript - Dolgikh O.V., Sinitsyna O.O.; responsibility for the integrity of all parts of the manuscript - Dolgikh O.V.

Received: October 09, 2019

Accepted: December 12, 2019

Published: February 27, 2020

Введение

Состояние атмосферного воздуха современного города характеризуется наличием вредных веществ, представляющих реальную угрозу жизни и здоровью населения [1–9]. Фенол является одним из наиболее распространённых токсичных соединений, содержащихся в выбросах производственных предприятий, отнесённый ко второму классу опасности [4]. Несмотря на недоказанную канцерогенность для человека и экспериментальных животных, тем не менее фенол проявляет данное свойство, что подтверждается рядом исследований. Производные фенола, такие как крезолы, являются высокоспецифичными веществами, наличие которых недопустимо в атмосферном воздухе селитебных зон и жёстко регламентируется установленными нормативами. Известно, что фенол и его производные являются гормон-мимикрирующими веществами [10–12], что связано с особенностью их химического строения, позволяющей заменять естественные стероидные гормоны, запуская целый каскад реакций, нарушающих целостность системы гипоталамус-гипофиз-яичники [13–22].

Репродуктивное здоровье населения – показатель стабильности государства и его потенциальная мощь, поэтому вопрос сохранения и предотвращения негативных эффектов со стороны репродуктивной сферы становится весьма актуальным на сегодняшний день.

Цель – оценить состояние иммунного статуса и полиморфизм генов кандидатов у женщин фертильного возраста, имеющих нарушения репродуктивной сферы в условиях избыточной контаминации фенолами.

Материал и методы

Исследованием была охвачена 181 женщина в возрасте $31 \pm 0,5$ года, постоянно проживающая на территории города Перми, в зоне влияния выбросов, содержащих фенол и крезолы. Особенность территории проживания исследуемых групп характеризуется наличием в выбросах предприятий как широко распространённых веществ (фенол), так и высокоспецифичных (крезолы), присутствие которых в воздухе жилых территорий недопустимо, а превышение предельно допустимых концентраций выше установленных нормативов способно повлечь за собой развитие ряда заболеваний, сопряжённых с нарушением репродуктивной функции.

Исследуемая выборка поделена на четыре подгруппы: Первая группа наблюдения сформирована из 55 женщин, характеризующихся наличием репродуктивных нарушений (злокачественное течение в виде сопутствующих заболеваний – миома матки) (группа наблюдения 1), уровень содержания фенола в крови у которых превышал референтный диапазон (более $0,016 \text{ мкг/см}^3$); вторая группа наблюдения состояла из 57 женщин с репродуктивными нарушениями, уровень контаминации биосред фенолом у которых не превышал референтный диапазон (до $0,016 \text{ мг/см}^3$) (группа наблюдения 2); первая контрольная группа – 32 женщины без репродуктивных нарушений (содержание фенола в крови превышало референтный уровень $> 0,016 \text{ мг/см}^3$) (группа контроля 1); вторая контрольная группа – 37 женщин без репродуктивных нарушений и допустимым содержанием фенола в крови ($0-0,016 \text{ мг/см}^3$) (группа контроля 2). К репродуктивным нарушениям были отне-

Таблица 1

Анализ показателей иммунной и эндокринной регуляции и их описательная статистика на нормальность распределения по критерию Шапиро–Уилка

Показатель	Реф. диапазон	n	X	D	SD	SE	p W
<i>Наблюдение 1</i>							
ТТГ	0,3–4 мкМЕ/см ³	51	2,02	1,79	1,34	0,19	0,0009
аТПО	0–30 Мее/мл	43	9,36	1071,46	32,73	4,99	0,0000
Интерлейкин-6	0–10 пг/мл	52	0,88	0,16	0,40	0,06	0,0276
Интерлейкин-10	0–20 пг/мл	48	4,45	6,42	2,53	0,36	0,0797*
Серотонин	80–450 нг/мл	48	120,38	11560,3	107,52	15,52	0,0000
Эстрадиол	0–476 пг/см ³	48	67,05	1224,88	34,99	5,05	0,5170*
<i>Наблюдение 2</i>							
ТТГ	0,3–4 мкМЕ/см ³	51	1,27	1,34	1,15	0,16	0,0000
аТПО	0–30 Мее/мл	51	8,4	366,06	19,13	2,68	0,0000
Интерлейкин-6	0–10 пг/мл	51	3,09	8,99	2,99	0,45	0,0000
Интерлейкин-10	0–20 пг/мл	51	0,75	0,16	0,39	0,56	0,4979*
Серотонин	80–450 нг/мл	49	289,51	52612,7	229,37	32,77	0,0001
Эстрадиол	0–476 пг/см ³	48	78,35	1203,34	34,68	5,00	0,1403
<i>Контроль 1</i>							
ТТГ	0,3–4 мкМЕ/см ³	32	1,32	0,17	0,42	0,21	0,7369*
аТПО	0–30 Мее/мл	32	8,57	370,2	19,24	7,27	0,0048
Интерлейкин-6	0–10 пг/мл	31	3,01	17,7	4,21	1,59	0,0356
Интерлейкин-10	0–20 пг/мл	30	2	0,5	0,71	0,29	0,8639*
Серотонин	80–450 нг/мл	32	88,28	193,68	13,92	6,22	0,8201*
Эстрадиол	0–476 пг/см ³	32	48,1	548,98	23,43	7,41	0,0001
<i>Контроль 2</i>							
ТТГ	0,3–4 мкМЕ/см ³	35	1,9	0,51	0,72	0,12	0,0001
аТПО	0–30 Мее/мл	36	9,15	30,02	5,48	0,91	0,0106
Интерлейкин-6	0–10 пг/мл	36	1,72	1,01	1,00	0,17	0,1359*
Интерлейкин-10	0–20 пг/мл	37	1,61	3,92	1,97	0,33	0,0000
Серотонин	80–450 нг/мл	37	245,38	8450,07	91,92	15,11	0,9939*
Эстрадиол	0–476 пг/см ³	37	39,57	276,88	16,63	2,73	0,0000

Примечание. * – нормальность распределения по критерию Шапиро–Уилка нарушена.

сены следующие нозологии: самопроизвольный аборт, замершая беременность II–III триместра, аборт в ходу, аденомиоз. Группы были сопоставимы по возрасту, этнической принадлежности и материнскому статусу.

Уровень фенола и крезолов в крови пациентов определялся при помощи метода капиллярной газовой хроматографии на приборе «Кристалл-5000», согласно МУК 4.1.2108-06, в качестве критерия оценки содержания фенолов в крови использованы региональные фоновые уровни МР 2.1.9.100-10.

Исследованы иммунологические показатели: уровень тиреотропного гормона в сыворотке (ТТГ) и антитела к тиреотропной оксидазе (аТПО), интерлейкины-6 и 10, уровень сывороточного серотонина, уровень эстрадиола – методом иммуноферментного анализа на приборе Е1х808 (США) в программе Gene5.

Исследованы полиморфизмы генов-кандидатов в развитии нарушений репродуктивной функции [23, 24]: ген второй фазы детоксикации ксенобиотиков сульфотрансфераза *SULT1A1* Arg213His rs9282861, ген долголетия сиртуин *SIRT1* C/G rs7069102, ген десинхронизации периода 2 *PER2* C/G rs643159 на приборе BioRAD CFX96 Real Time System (Сингапур) в программе TaqMan.

Обработка полученных данных осуществлялась в пакете программ Statistica 10.0. Использовались описательная статистика (*X* – среднее, *N* – количество, *D* – дисперсия, *SD* – стандартное отклонение, *SE* – стандартная ошибка), параметрические

(*t*-критерий Стьюдента) и непараметрические методы (*U*-критерий Манна–Уитни), оценка нормальности распределения (*pW* уровень значимости по критерию Шапиро–Уилка), корреляционный анализ ($y = b_0 + b_1x$ – уравнение корреляции, R^2 – коэффициент детерминации, r – коэффициент корреляции Спирмена, p – уровень значимости). Оценка полиморфности кандидатных генов оценивалась с использованием Microsoft Excel, с расчётом: *HWE* – равновесие Харди–Вайнберга, а также мультипликативной моделью наследования (где *OR* – оценка шансов, *CI* 95 – 95% доверительный интервал, χ^2 – хи-квадрат, p – уровень значимости). Результаты считались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$. Использовалась поправка на множественные сравнения Бонферрони, устанавливающая значимые результаты при $p < 0,0083$ ($p = 1 - 95^{(1/n)}$, где n – число попарных сравнений).

Результаты

В результате проведённых исследований установлены параметры иммунологических показателей в анализируемых группах женщин фертильного возраста с различными уровнями контаминации крови фенолом. Показатели иммунной и эндокринной регуляции и их описательная статистика на нормальность распределения по критерию Шапиро–Уилка представлены в табл. 1.

Таблица 2

Параметрические и непараметрические критерии сравнительной оценки исследуемых групп

Показатель	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>U</i>	<i>Z</i>	<i>p</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>U</i>	<i>Z</i>	<i>p</i>
	Наблюдение 1 / Наблюдение 2					Контроль 1 / Контроль 2				
ТТГ	-3,00	0,003**	792,0	-3,39	0,0006**	3,38	0,001**	306,5	3,18	0,001**
аТПО	-0,17	0,861	783,5	2,37	0,017	0,41	0,686	528,2	0,59	0,555
Интерлейкин-6	5,268	0,000**	412,0	6,02	0,000**	-3,48	0,001**	341,0	-2,73	0,006**
Интерлейкин-10	-10,28	0,000*	192,0	-7,23	0,000**	-1,02	0,312	306,0	-3,13	0,001**
Серотонин	4,63	0,000**	585,0	4,26	0,000**	9,50	0,000*	59,0	6,41	0,000**
Эстрадиол	1,58	0,115*	929,0	1,63	0,102	-2,07	0,042	397,0	-2,35	0,019
	Наблюдение 1 / Контроль 1					Наблюдение 2 / Контроль 2				
ТТГ	2,74	0,007**	573,0	2,27	0,023	-2,84	0,006**	480,5	-3,62	0,000**
аТПО	0,12	0,898	264,0	-4,54	0,000**	-0,27	0,820	489,5	-3,39	0,000**
Интерлейкин-6	-7,64	0,000**	314,5	-4,62	0,000**	2,64	0,009	639,5	2,40	0,016
Интерлейкин-10	5,13	0,000*	307,0	4,24	0,000**	-3,00	0,003*	927,5	0,13	0,892
Серотонин	1,67	0,099*	766,0	0,019	0,984	1,10	0,273	894,0	-0,10	0,913
Эстрадиол	2,62	0,010*	514,0	2,495	0,012	6,33	0,000**	301,0	5,20	0,000**
	Наблюдение 1 / Контроль 2					Наблюдение 2 / Контроль 1				
ТТГ	0,477	0,634	875,0	-0,15	0,877	-0,19	0,847	675,5	-1,31	0,189
аТПО	0,038	0,969	241,0	-5,24	0,000**	-0,05	0,953	496,0	-2,99	0,002**
Интерлейкин-6	-5,43	0,000**	485,0	-3,82	0,000**	0,13	0,896	746,0	-0,42	0,670
Интерлейкин-10	5,62	0,000*	305,5	5,16	0,000**	-9,45	0,000*	113,5	-6,37	0,000**
Серотонин	-5,65	0,000**	294,0	-5,26	0,000**	4,94	0,000*	339,0	4,29	0,000**
Эстрадиол	4,47	0,000*	438,0	3,98	0,000**	4,27	0,000	404,0	3,57	0,000**

Примечание. * – различия не считаются значимыми, так как нарушена нормальность распределения; ** – различия значимы с учётом поправки Бонферрони $p < 0,0083$.

Результаты проведения сравнительного анализа между группами женщин, имеющих в анамнезе невынашивание беременности, но отличные по уровню контаминации фенолом (наблюдение 1 – наблюдение 2), выявили значимые различия при $p < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента (с учётом поправки Бонферрони) индикаторных показателей у контаминированных гидроксibenзолом женщин: ТТГ (превышение в 1,6 раза), интерлейкина-6 (снижение в 3,5 раза) и серотонина (ниже в 2,4 раза), а также значимые различия по показателю интерлейкина-10 (выше в 5,9 раза) по *U*-критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$ с учётом поправки Бонферрони). Значимые различия обнаружены также при сравнении групп женщин, имеющих избыточную контаминацию биосред фенолом, но различающихся наличием репродуктивных потерь в группе наблюдения (наблюдение 1 – контроль 1): по уровню ТТГ (выше в 1,5 раза), интерлейкину-6 (ниже в 3,4 раза) ($p < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента), а также значимые различия уровня экспрессии интерлейкина-10 (превышение в 2,2 раза) по *U*-критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$ с учётом поправки Бонферрони). Сравнение групп женщин фертильного возраста, у которых отсутствует значимая контаминация крови фенолом, различающихся наличием патологии репродукции (наблюдение 2 – контроль 2), показало достоверное различие уровней эстрадиола (выше в 2 раза) и ТТГ (ниже в 1,5 раза) по *t*-критерию Стьюдента (табл. 2). Выявлены достоверные различия между условно здоровыми женщинами, отличающимися по уровню контаминации фенолом (контроль 1 – контроль 2). Так, в группе, имеющей повышенную контаминацию фенолом (контроль 1), отмечается снижение уровня экспрессии ТТГ в 1,4 раза, гиперпродукция интерлейкина-6 (превышение в 1,8 раза) по *t*-критерию Стьюдента ($p < 0,05$ с учётом поправки Бонферрони), а также отмечаются значимые различия в содержании интерлейкина-10 (выше в 1,2 раза) и уровня серотонина (ниже в 2,8 раза) по *U*-критерию Манна–Уитни.

Исследование корреляционной зависимости уровня контаминации биосред и иммунологических маркёров («маркёр экспозиции – маркёр эффекта») позволило получить модели зависимости

уровня серотонина ($y = 254,8 + 786,1 \cdot x$, $r = 0,22$, $p < 0,05$) и ТТГ ($y = 1,39 + 4,8 \cdot x$, $r = 0,20$, $p < 0,05$) от контаминации биосред фенолом; уровни эстрадиола ($y = 61,4 + 160,2 \cdot x$, $r = 0,26$, $p < 0,05$) и ТТГ ($y = 1,37 + 1,53 \cdot x$, $r = 0,37$, $p < 0,01$) от контаминации крезолом (табл. 3).

Анализ полиморфности генов-кандидатов в развитии невынашивания беременности обнаружил значимые различия между группами и позволил выявить аллели, выступающие в качестве факторов репродуктивных нарушений. Проведённый сравнительный анализ полученной мультипликативной модели наследования позволил установить, что в качестве факторов риска развития нежелательных эффектов (репродуктивных нарушений) в системах «случай-контроль» выступают: аллель А гена первой фазы детоксикации – *SULT1A1* Arg213His rs9282861 при сравнении выборок «наблюдение 1 – контроль 1» ($p < 0,05$, OR = 3,24, CI = 1,02–10,39), «наблюдение 2 – контроль 1» ($p < 0,01$, OR = 4,80, CI = 1,51–15,28); аллель С гена долголетия *SIRT* C/G rs7069102

Таблица 3

Модели зависимости «маркёр экспозиции – маркёр эффекта»

Маркёр экспозиции	Маркёр эффекта	b0	b1	R2	r	N	p
Фенол	ТТГ	1,39	4,85	0,0438	0,209	94	0,0429
Фенол	Серотонин	254,85	786,09	0,0528	0,229	88	0,0312
Крезол	ТТГ	1,37	1,53	0,134	0,366	94	0,0003
Крезол	Серотонин	239,38	122,38	0,0374	0,193	88	0,0709
Крезол	Эстрадиол	61,37	160,23	0,0669	0,258	72	0,0283

**Мультипликативная модель наследования.
Оценка активности аллеля в развитии нежелательных эффектов (репродуктивных нарушений)**

Локус	Генотип	Параметры достоверности различий (<i>p</i> , <i>OR</i> , <i>CI</i>)	
		Наблюдение 1 / Наблюдение 2	Контроль 1 / Контроль 2
SULT1A1	G/G		
Arg213His	G/A	0,1421	0,1500
rs9282861	A/A		
PER2	C/C		
C/G	C/G	0,2246	0,1634
rs643159	G/G		
SIRT1	C/C		
C/G	C/G	2,65 (1,09–6,44)	*0,2006
rs7069102	G/G	0,0286	
		Наблюдение 1 / Контроль 1	Наблюдение 2 / Контроль 2
SULT1A1	G/G		
Arg213His	G/A	0,0381	*0,4091
rs9282861	A/A	3,24 (1,02–10,29)	
PER2	C/C		
C/G	C/G	0,6590	0,2767
rs643159	G/G		
SIRT1	C/C		
C/G	C/G	0,1027	0,2162
rs7069102	G/G		
		Наблюдение 1 / Контроль 2	Наблюдение 2 / Контроль 1
SULT1A1	G/G		
Arg213His	G/A	*0,8938	0,0045
rs9282861	A/A		4,80 (1,51–15,28)
PER2	C/C		
C/G	C/G	0,0347	0,6272
rs643159	G/G	3,38 (1,04–10,92)	
SIRT1	C/C		
C/G	C/G	5,88 (1,80–19,19)	0,8555
rs7069102	G/G	0,0015	

Примечание. * – распределение частот генотипов гена *SULT1A1* не соответствует равновесию Харди–Вайнберга в группе контроля 2, следовательно, проведение анализа в парах с этой группой невозможно.

при сравнении выборок «наблюдение 1 – наблюдение 2» ($p < 0,05$, $OR = 2,65$, $CI = 1,09–6,44$), «наблюдение 1 – контроль 2» ($p < 0,01$, $OR = 5,88$, $CI = 1,80–19,19$); аллель G гена десинхроноза – *PER2* C/G rs643159, при сравнении выборок «наблюдение 1 – контроль 2» ($p < 0,05$, $OR = 3,38$, $CI = 1,04–10,92$) (табл. 4).

Обсуждение

Согласно источникам литературы, на сегодняшний день нет адекватных и достоверных данных, подтверждающих влияние техногенного фенола на репродуктивную систему женщины [17–26]. На примере исследований Mary S. Wolff и соавт. (2008), изучавших влияние фенола на исходы беременности у женщин разной расовой принадлежности, достоверных взаимосвязей с какими-либо исходами родов не обнаружили, однако были отмечены полоспещидческие изменения, проявляющиеся в изменении массы и длины тела у младенцев мужского пола [17]. Изучение гормоноподобных фенолов коллективом авторов (Gear R.B. и соавт., 2017), таких как бисфенол А (BPA), поступающих пероральным путём в

концентрациях 4–40 мкг/кг/сут на экспериментальных животных (мыши), позволило установить дозозависимое и полдозависимое воздействие на селезёнку и иммуномодулирующее действие на иммунные клетки. В своих ранних исследованиях авторы установили эстрогенное действие BPA, проявляющееся в развитии патологического фиброза и воспалительной патологии матки, а также изменение эндокринного потенциала, через изменение физиологических свойств изолированных иммунных клеток [19]. Похожее исследование проводилось Binder A.M. и соавт. (2018), изучалось влияние фенола на срок наступления менархе у девочек, где фенол выступал в качестве фактора, провоцирующего раннее наступление менархе [20], что косвенно ассоциируется с полученными нами результатами, указывающими на эстрадиоловую мимикрию фенола у женщин с невынашиванием беременности, а также на одновременную конкурентную катехоламиновую супрессию, выражающуюся в угнетении экспрессии серотонина.

В других исследованиях Vaj Z. и соавт. (1994) по оценке негативного влияния фенола, поступающего ингаляционным путём, на сотрудников офиса было выяснено, что фенол приводил к

значительному снижению количества Т-лимфоцитов, цитотоксичности NK-клеток, а также к снижению пролиферации лимфоцитов, что может свидетельствовать в пользу иммуносупрессорной функции фенолов [26]. Эксперимент Monfared A.L. и соавт. (2014), проведённый на лабораторных мышах, которым перорально давали растворы фенола в концентрациях 80; 180 и 320 мг/кг/сут, показал поражение селезёнки с её лимфоцитарным истощением. Тимусная ткань отличалась снижением популяции тимоцитов, отмечалось поражение надпочечников и лимфатических узлов с изменением уровня популяций лимфоидных клеток плазмы. Авторы сообщают об иммунотоксическом и иммуносупрессивном действии раствора фенола [18].

Полученные нами результаты коррелируют с результатами Vaj Z. и соавт., а также Monfared A.L. и соавт., что подтверждается угнетением экспрессии интерлейкина-6, выступающего в качестве провоспалительного цитокина, с одновременной гиперпродукцией противовоспалительного интерлейкина-10 у женщин с патологией репродукции, контаминированных фенолом.

Ген сульфотрансферазы *SULT1A1* относится ко второй фазе детоксикации эндобактериальных, ксенобактериальных (в том числе фенолов), эндогенных стероидов и имеет важное значение в катализации эстрогенов, гормонов щитовидной железы и нейромедиаторов. Nagar S. и соавт. (2006) установили, что замена G-нормальной аллели на A-мутантную в полиморфизме Arg213His связана с двукратным снижением каталитической активности проканцерогенных веществ [25–27].

Результаты, представленные в настоящем исследовании, указывают на угнетение каталитической активности, что подтверждается наличием повышенного уровня фенола в крови, а также A-мутантного аллеля гена сульфотрансферазы, ассоциированных с невынашиванием беременности.

Borondone L. и соавт. (2007) в экспериментах на мышах установили, что повышенная экспрессия гена сиртуина *SIRT1* была ассоциирована с долголетием. Биологическая активность белков сиртуина включает деацетилирование, в том числе гистонов и p53, повышение геномной стабильности, транскрипционный сайленсинг, то есть способность клетки подавлять репродукцию и экспрессию определённого гена [28]. По мнению Horio Y., Hayashi T., Kuno A., Kunitomo R., *SIRT1* деацетирует транскрипционные факторы FOX, индуцируя тем самым стресс-

устойчивые белки, что приводит к тому, что клеточный цикл приостанавливается, происходит прямое подавление инициации транскрипции, что согласуется с полученными нами данными ассоциации невынашивания беременности с С-аллелем гена *SIRT1* [30].

Ген циркадных ритмов *PER2* регулирует пролиферацию, секретию и метаболизм клеток, активирует процесс апоптоза [29]. Так как циркадные ритмы подготавливают организм к ожидаемым событиям, например, наступлению беременности для женщин, генетические особенности гена *PER2* (период гомолог 2) могут явиться пусковым механизмом в процессе дисрегуляции внутренней среды женского организма, нарушенной присутствием фенольных соединений в биосредах, низкой каталитической активностью генов детоксикации (*SULT1A1*) и избыточным транскрипционным сайленсингом клеток (*SIRT1*).

Таким образом, в представленной работе показаны особенности нарушений репродуктивной сферы у женщин фертильного возраста, ассоциированные с эффектами избыточной контаминации биосред фенолом, превышающей референтный диапазон, на состояние иммунной и эндокринной систем, когда фенол выступает в качестве иммуносупрессора и эндокринного разрушителя, что свидетельствует в пользу формирования негативных особенностей течения и прогноза беременности в условиях изменённого генетического фона [13–16].

Заключение

Проведённое исследование позволило установить, что исследуемые выборки женщин детородного возраста, характеризующихся наличием репродуктивных нарушений, способствующих развитию невынашивания беременности, имели не только более выраженную злокачественность процесса в виде аденомиоза, но и как результат избыточной контаминации биосред фенолом, изменённым иммунологическим и протеомно-медиаторным профилем в виде дисбаланса цитокинов (интерлейкины-6 и 10), медиаторов нейроэндокринной регуляции (серотонин, эстрадиол) относительно групп контроля, а также наличием полиморфизма кандидатных генов, повышающих шансы развития репродуктивных потерь, ассоциированных с присутствием А-аллеля гена *SULT1A1*, G-аллеля гена *PER2* и С-аллеля гена *SIRT1*.

Литература (пп. 17–22, 26–30 см. References)

- Амиров Н.Х. Гигиенические проблемы современных городов. *Казанский медицинский журнал*. 2005; 86 (4): 257–67.
- Березин И.И., Семаева Е.А. Современное состояние атмосферного воздуха в городе с интенсивным развитием нефтеперерабатывающей промышленности. *Здоровье населения и среда обитания*. 2017; 3 (288): 18–22.
- Балданова Л.П., Чупров С.В. Влияние атмосферного воздуха на состояние здоровья населения в Иркутской области. *Известия Иркутской государственной экономической академии*. 2013; 1: 161–7.
- Клейн С.В., Вековшинина С.А., Криулина Н.В. Гигиеническая оценка качества атмосферного воздуха в зоне воздействия источника выбросов фенола и крезолов. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012; 14 (5): 600–3.
- Ланин Д.В., Долгих О.В. Воздействие производственных химических факторов на иммунный статус женщин репродуктивного возраста. *Вестник Уральской медицинской академии наук*. 2011; 2 (35): 93–4.
- Сафонов В.С. Анализ состояния атмосферного воздуха г. Новосибирска за 1998–2011 гг. *Интерэкспо Гео-Сибирь*. 2012; 2 (3): 102–8.
- Семенова Н.П. Состояние атмосферного воздуха и заболеваемость населения Республики Саха (Якутия). *Экология человека*. 2013; 12: 14–9. DOI: 10.33396/1728-0869-2013-12-14-19.
- Хотько Н.И., Дмитриев А.П. Санитарное состояние атмосферного воздуха и здоровье населения. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. *Медицинские науки*. 2012; 2 (22): 125–35.
- Штриплинг Л.О., Баженов В.В., Калинин Ю.В. Определение источника сверхнормативного загрязнения атмосферы населённого пункта. *Омский научный вестник*. 2012; 2 (114): 211–5.
- Никитин А.И. Гормоноподобные ксенобактериальные и их роль в патологии репродуктивной функции человека. *Экология человека*. 2006; 2: 17–23.
- Никитин А.И. Гормоноподобные загрязнители биосферы и их влияние на репродуктивную функцию человека. *Биосфера*. 2009; 218–29.
- Чернов В.О., Артымук Н.В., Данилова Л.Н. Гормоноподобные ксенобактериальные и гинекологические проблемы. Обзор литературы. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2018; 2 (73): 20–6.
- Казакова О.А., Долгих О.В., Кривцов А.В., Синицына О.О., Мазунина А.А. Иммуногенетические особенности у женщин с нарушениями репродуктивной функции, экспонированных фенолами. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11 (2): 141–3.
- Бубнова О.А., Синицына О.О. Полиморфизм гена *FAS* C14405T и маркеры клеточной дифференцировки у женщин фертильного возраста с привычным невынашиванием беременности, экспонированных фенолом. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11 (2): 265–6.
- Предеина Р.А., Бубнова О.А., Вдовина Н.А., Варанкина А.В. Иммунные и генетические механизмы невынашивания в условиях экспозиции гидроксильрованными бензолами. *Российский иммунологический журнал*. 2014; 8 (3): 369–72.
- Долгих О.В., Кривцов А.В., Бубнова О.А., Алексеев В.Б. Особенности генетического полиморфизма у женщин с угрозой невынашивания в условиях хронической аэрогенной экспозиции фенолами. *Анализ риска здоровью*. 2013; 4: 77–81.
- Вознесенская Т.Ю., Блашкив Т.В. Роль сиртуина в регуляции овариальной функции (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2018; 24 (1): 7–12.
- Афанасьева Н.А., Хвостова Е.П., Пустыльняк В.О., Часовникова О.Б., Красильников С.Э., Гуляева Л.Ф. Анализ генетического полиморфизма эстрогенов у больных раком яичников в Сибирском регионе. *Молекулярная медицина*. 2013; 1: 16–9.
- Заявка на изобретение от 29 ноября 2019 года. Авторы: Долгих О.В., Казакова О.А., Аликина И.Н., Легостаева Т.А., Ширинкина А.С., Путилова С.А.

References

1. Amirov N.H. Hygienic problems of modern cities. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal [Kazan Medical Journal]*. 2005; 86 (4): 257–67. (in Russian)
2. Berezin I.I., Semaeva E.A. The current state of atmospheric air in the city with the intensive development of the oil refining industry. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2017; 3 (288): 18–22. (in Russian)
3. Baldanova L.P., Chuprov S.V. Influence of atmospheric air on the health of the population in the Irkutsk region. *Izvestiya Irkutskoy gosudarstvennoy ekonomicheskoy akademii [Proceedings of the Irkutsk State Economic Academy]*. 2013; 1: 161–7. (in Russian)
4. Klein S.V., Vekovshina S.A., Kriulina N.V. Hygienic assessment of atmospheric air quality in the zone of influence of phenol and cresol emission sources. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk [Proceedings of the Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences]*. 2012; 14 (5): 600–3. (in Russian)
5. Lanin D.V., Dolgikh O.V. Influence of industrial chemical factors on the immune status of women of reproductive age. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademii nauk [Bulletin of the Ural medical Academy of Sciences]*. 2011; 2 (35): 93–4. (in Russian)
6. Safonov V.S. Analysis of the state of atmospheric air of Novosibirsk for 1998–2011. *Interexpo Geo-Sibir' [Interexpo Geo-Siberia]*. 2012; 2 (3): 102–8. (in Russian)
7. Semenova N.P. The state of atmospheric air and morbidity of the population of the Republic of Sakha (Yakutia). *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*. 2013; 12: 14–9. DOI: 10.33396/1728-0869-2013-12-14-19. (in Russian)
8. Khotko N.I., Dmitriev A.P. Sanitary state of atmospheric air and population health. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskiye nauki [Proceedings of higher educational institutions. Volga region. Medical science]*. 2012; 2 (22): 125–35. (in Russian)
9. Stripling L.O., Bazhenov V.V., Kalinin Yu.V. Determination of the source of excess pollution of the atmosphere of the settlement. *Omskiy nauchnyy vestnik [Omsk scientific Bulletin]*. 2012; 2 (114): 211–5. (in Russian)
10. Nikitin A.I. Hormone-like xenobiotics and their role in the pathology of human reproductive function. *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*. 2006; 2: 17–23. (in Russian)
11. Nikitin A.I. Hormone-like pollutants of the biosphere and their influence on human reproductive function. *Biosfera [Biosphere]*. 2009: 218–29. (in Russian)
12. Chernov V.O., Artymuk N.V., Danilova L.N. Hormone-like xenobiotics and gynecological problems. Literature review. *Mat' i ditya v Kuzbasse [Mother and child in Kuzbass]*. 2018; 2 (73): 20–6. (in Russian)
13. Kazakova O.A., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Sinitsyna O.O., Mazunina A.A. Immunogenetic features in women with reproductive disorders exposed to phenols. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal [Russian journal of immunology]*. 2017; 11 (2): 141–3. (in Russian)
14. Bubnova O.A., Sinitsyna O.O. Polymorphism of the FAS C14405T gene and markers of cell differentiation in women of fertile age with habitual miscarriage exposed to phenol. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal [Russian journal of immunology]*. 2017; 11 (2): 265–6. (in Russian)
15. Predeina R.A., Bubnova O.A., Vdovina N.A., Varankina A.V. Immune and genetic mechanisms of miscarriage under exposure to hydroxylated benzenes. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal [Russian Journal of Immunology]*. 2014; 8 (3): 369–72. (in Russian)
16. Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Alekseev V.B. Features of genetic polymorphism in women at risk of miscarriage in chronic aerogenic exposure to phenols. *Analiz riska zdorov'yu [Health Risk Analysis]*. 2013; 4: 77–81. (in Russian)
17. Wolff M.S., Engel S.M., Berkowitz G.S., Ye X., Silva M.J., Zhu C. et al. Prenatal Phenol and Phthalate Exposures and Birth Outcomes. *Environ Health Perspect.* 2008; 116 (8): 1092–7. DOI: 10.1289/ehp.11007.
18. Monfared A.L., Jaafari A., Sheibani M.H. Histological and histometrical evidences for phenol immunotoxicity in mice. *Comp Clin Path.* 2014; 23 (3): 529–34. Published online 2012 Nov 17. DOI: 10.1007/s00580-012-1645-9.
19. Gear R.B., Belcher S.M. Impacts of Bisphenol A and Ethinyl Estradiol on Male and Female CD-1 Mouse. *Spleen Sci Rep.* 2017; 7: 856. Published online 2017 Apr 12. DOI: 10.1038/s41598-017-00961-8.
20. Binder A.M., Corvalan C., Calafat Antonia M., Ye X., Mericq V., Pereira A. et al. Childhood and adolescent phenol and phthalate exposure and the age of menarche in Latina girls. *Environ Health.* 2018; 17: 32. Published online 2018 Apr 3. DOI: 10.1186/s12940-018-0376-z.
21. Buckley J.P., Quirós-Alcalá L., Teitelbaum S.L., Calafat A.M., Wolff M.S., Engel S.M. Associations of prenatal environmental phenol and phthalate biomarkers with respiratory and allergic diseases among children aged 6 and 7 years. *Environ Int.* 2018; 115: 79–88. Published online 2018 Mar 20. DOI: 10.1016/j.envint.2018.03.016.
22. Amira M., AkerLauren J., McElrath T.F., Cantonwine D.E., Mukherjee B., Meeker J.D. Associations between Maternal Phenol and Paraben Urinary Biomarkers and Maternal Hormones during Pregnancy: A Repeated Measures Study. *Environ Int.* 2018 Apr; 113: 341–9. Published online 2018 Feb 1. DOI: 10.1016/j.envint.2018.01.006.
23. Voznesenskaya T.S., Blaskic T.V. The role of sirtuin in the regulation of ovarian function (literature review). *Problemy reproduktivnoy [Reproduction Problems]*. 2018; 24 (1): 7–12. (in Russian)
24. Afanasyeva N.A., Khvostova E.P., Pustyl'nyak V.O., Chasovnikova O.B., Krasilnikov S.E., Gulyaeva L.F. Analysis of genetic polymorphism of estrogens in patients with ovarian cancer in the Siberian region. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular Medicine]*. 2013; 1: 16–9. (in Russian)
25. Application for the Invention dated November 29, 2019. Authors: Dolgikh O.V., Kazakova O.A., Alikina I.N., Legostaeva T.A., Shirinkina A.S., Putilova S.A. (in Russian)
26. Baj Z., Majewska E., Zeman K., Pokoca L., Dworniak D., Paradowski M. et al. The effect of chronic exposure to formaldehyde, phenol and organic chlorohydrocarbons on peripheral blood cells and the immune system in humans. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1994; 4 (4): 186–91.
27. Nagar S., Walther S., Blanchard R.L. Sulfotransferase (SULT) 1A1 polymorphic variants *1, *2, and *3 are associated with altered enzymatic activity, cellular phenotype, and protein degradation. *Mol Pharmacol.* 2006; 69 (6): 2084–92.
28. Bordone L., Cohen D., Robinson A., Motta C.M., Veen E.V., Czopic A. et al. SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell.* 2007; 6: 759–67.
29. Winter S.L., Bosnyan-Collins L., Pinnaduwa D., Andrusis I.L. Expression of the circadian clock genes *PER1* and *PER2* in sporadic and familial breast tumors. *Neoplasia.* 2007; 9 (10): 797–800.
30. Horio Y., Hayashi T., Kuno A., Kunimoto R. Cellular and molecular effects of sirtuins in health and disease. *Clin Sci.* 2011; 121 (5): 191–203.