



УДК 613.63:614.71:612.12.129

Н.В. Зайцева^{1,2}, О.Ю. Устинова^{1,2}, В.Н. Звездин^{1,2}, М.А. Землянова¹⁻³, Т.И. Акафьева⁴

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОДКОЖНОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ БИОМОНИТОРИНГА ДОЗОВОЙ НАГРУЗКИ У РАБОТНИКОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», д. 82, ул. Монастырская, Пермь, Россия, 614045

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», д. 15, ул. Букирева, Пермь Россия, 614990

³ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», д. 29, Комсомольский пр-т, Пермь, Россия, 614990

⁴ООО «МИП «Микроигольные технологии», д. 15, ул. Букирева, Пермь, Россия, 614990

При сравнительной оценке содержания металлов в крови и подкожной интерстициальной жидкости (ПИЖ) установлено, что содержание хрома, марганца, мышьяка, кадмия в данных биосредах не имеет значимых статистических различий ($p=0,056-0,907$) и имеет сильную корреляционную связь ($r=0,52-0,93$). Установлено, что содержание в ПИЖ ряда металлов (никель, медь, цинк, свинец) имеет статистически достоверные различия по уровню содержания в крови и ПИЖ, но для них установлены прочные корреляционные связи содержания в биосредах ($r=0,43-0,72$).

Предполагается, что подкожная интерстициальная жидкость может явиться перспективной средой для решения биомониторинга дозовой нагрузки у работников промышленных предприятий металлургических производств и позволит повысить эффективность мероприятий по снижению риска негативного воздействия факторов рабочей среды на здоровье работающих.

Ключевые слова: *подкожная интерстициальная жидкость, микроиглы, масс-спектрометрия, никель, свинец, медь, цинк, мышьяк.*

N.V. Zaitseva^{1,2}, O.Yu. Ustinova^{1,2}, V.N. Zvezdin^{1,2}, M.A. Zemlyanova¹⁻³, T.I. Akaf'eva⁴. **Experience of using subcutaneous interstitial fluid for biomonitoring a dose load in workers of metallurgic industry**

¹FBSI «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies», 82 Monastyrskaya St., Perm, Russia, 614045

²FSBEI HPE «Perm State National Research University», 15 Bukireva St., Perm, Russia, 614990

³FSBEI HPE «Perm State National Research Polytechnic University», Komsomol pr-t, 29a, Perm, Russia, 614000

⁴LLC «Small Innovative Company "Microneedle Technology"» 15 Bukireva St., Perm, Russia, 614990

Comparative evaluation of metals content of serum and subcutaneous interstitial fluid revealed that levels of chromium, manganese, arsenic, cadmium in these biologic media have no reliable differences ($p = 0.056-0.907$) but strong correlation ($r = 0.52-0.93$). Findings are that some metals (nickel, copper, zinc, lead) contents of subcutaneous

interstitial fluid have reliable differences in contents of serum and subcutaneous interstitial fluid, but these metals have strong correlations between their contents in the biologic media ($r = 0.43-0.72$).

Chances are that subcutaneous interstitial fluid is a promising medium for biomonitoring of dose load in metallurgic industry workers and enables to increase efficiency of measures reducing risk of occupational hazards influence on the workers' health.

Key words: *subcutaneous interstitial fluid, micro-needles, mass spectrometry, nickel, lead, copper, zinc, arsenic.*

Оценка экспозиции работников при внешнесредовом воздействии металлов приобретает особую значимость в промышленных регионах, где машиностроение и металлургия относятся к ключевым отраслям производства [1]. В рабочих зонах предприятий данного профиля стабильно отмечается превышение уровней ПДК по содержанию металлов, формирующих неприемлемый риск для здоровья работников [4]. В связи с этим актуален вопрос не только мониторинга содержания металлов в воздухе рабочей зоны, но и биомониторинга, позволяющего повысить информативность мероприятий по оценке индивидуальной дозовой нагрузки для обеспечения безопасности работников и минимизации рисков, связанных с условиями труда [4].

В мировой практике для решения задач биомониторинга используют, как правило, кровь, мочу и/или волосы [11]. Цельная кровь является наиболее информативной средой для оценки действующей дозы на организм таких металлов как ртуть, никель, хром (VI), медь, кадмий, мышьяк, марганец, цинк, свинец [8]. Использование мочи показано при определении интенсивности элиминации ртути, никеля, фтора [7]. В работах отечественных и зарубежных авторов доказано, что волосы являются хорошим индикатором воздействия на население мышьяка, фтора, группы редкоземельных и урановых элементов [3,7,12].

Исследование крови для регулярного мониторинга является затруднительным в виду инвазивности методик отбора биоматериала. Моча и волосы не отражают действующую дозовую нагрузку, а показывают интенсивность элиминации соединений из организма [2,8,11]. На сегодняшний день актуальным направлением совершенствования технологий биомониторинга является создание систем для трансдермального отбора подкожной интерстициальной жидкости (ПИЖ) — биосубстрата, сопоставимого по информативности с цельной кровью. Использование микроигловых аппликаторов позволяет безболезненно и атравматично извлекать до 2 мкл ПИЖ для дальнейшего исследования [6,13,14]. Микроигловые аппликаторы перспективны для осуществления ежедневного индивидуального мониторинга дозовой нагрузки металлами у работников металлургических производств, однако для стандартизации микроигловых технологий необходимо углубленное исследование ПИЖ на сопоставимость с цельной кровью как наиболее информативной среды, отражающей реальную химическую нагрузку на организм работающих.

Целью данного исследования является сравнительная оценка содержания металлов в цельной крови и

подкожной интерстициальной жидкости для биомониторинга дозовой нагрузки у работников металлургических производств.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 30 добровольцах-мужчинах русской национальности в возрасте 27–35 лет, проживающих и работающих в условиях санитарно-гигиенического благополучия. Критерием включения в группу обследования являлось отсутствие в анамнезе эпизодов девиантного поведения, острых заболеваний и обострений хронических соматических заболеваний (в течение 1 месяца до исследования). В течение 1 месяца до исследования добровольцы не принимали лекарственных препаратов.

Для отбора биологических образцов был апробирован и реализован способ отбора подкожной интерстициальной жидкости, ранее представленный в работе U. Kiistala [10]. Для выполнения эксперимента была изготовлена насадка для вакуумной помпы, позволяющая отбирать подкожную жидкость. В основе конструкции применялись биосовместимые материалы, которые можно подвергать стандартным процедурам стерилизации. Устройство содержит 5 отверстий диаметром 5 мм и шланг длиной 30 см. В качестве генератора отрицательного давления использован вакуумный аспиратор Pump-7e (Armed, Россия), позволяющий создавать вакуум с давлением до 600 мм рт. ст.

Алгоритм отбора: на открытый участок спины на 30 мин. накладывали помпу. Давление устанавливали на отметке 300 мм рт. ст. После формирования везикул, наполненных ПИЖ, аспиратор отключали. Не снимая вакуумной помпы, производили отбор ПИЖ автоматическим дозатором с пластиковым наконечником. ПИЖ отбирали только из везикул без признаков пропотевания капиллярной крови. По результатам апробированного способа получено 30 образцов ПИЖ, средний объем которых соответствовал 5 мкл.

Для выполнения процедуры сравнительного анализа использовали аналогичный объем цельной венозной крови, отобранной из локтевой вены в вакуумную пробирку непосредственно после отбора ПИЖ.

Анализ содержания металлов в исследуемых биологических жидкостях выполняли методом масс-спектрометрии на масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500сх с октопольной реакционной столкновительной ячейкой, в качестве газа-реактанта использовали гелий (Agilent Technologies, USA).

Статистическая обработка результатов анализа включала оценку достоверности полученных результатов исследования по критерию Стьюдента (сравнение групп по количественным признакам), разли-

чия являлись статистически значимыми при $p \leq 0,05$; установление достоверных связей уровня показателя, измеряемого в ПИЖ, с уровнем показателя, измеряемого в цельной крови описывали с помощью корреляционного анализа. Оценку параметров зависимости осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Полученные средние значения содержания металлов в цельной крови добровольцев верифицировали с референтными значениями [5].

Исследование выполнено в соответствии с требованиями локального этического комитета ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты проведенного исследования показали, что содержание металлов в крови добровольцев соответствовало референтному уровню или было достоверно ниже (табл. 1).

Сравнительная оценка содержания металлов в крови и подкожной интерстициальной жидкости добровольцев показала, что по содержанию хрома, марганца,

мышьяка, кадмия достоверных различий не установлено ($p=0,056-0,907$). При этом установлена прямая корреляционная связь зависимости уровней металлов в крови и ПИЖ ($r=0,52-0,93$) (табл. 2, рис. 1, 2).

Установлено, что уровень содержания никеля, ванадия и стронция в подкожной интерстициальной жидкости в 2,6 и 5,6 раза выше по сравнению с уровнем в цельной крови ($p=0,001-0,014$) (рис. 1, 4). При этом установлена прямая корреляционная связь зависимости уровня никеля в крови и ПИЖ ($r=0,72$). Установлено, что уровень содержания ряда элементов достоверно ниже, чем в цельной крови: медь (в 1,9 раза), цинк (в 9,2 раза), селен (в 2,6 раза), свинец (1,8 раза) ($p=0,001$) (табл. 2, рис. 2, 3, 4). При этом для меди, цинка и свинца были установлены прочные корреляционные связи содержания в крови и ПИЖ ($r=0,43-0,54$).

Графики уровней металлов в цельной крови и ПИЖ с указанием ошибки распределения и значения представлены на рисунках. Для лучшей визуализации уровни содержания металлов представлены в микрограммах на литр.

Таблица 1

Сравнительная оценка уровня металлов в цельной крови добровольцев с референтным значением

Вещество	Кровь, мг/дм ³		Референтный предел в крови, мг/дм ³	Достоверность различий значений в крови с референтным уровнем (p)	Кратность	
	М	м			пов.	сниж.
Ванадий	0,00018	0,00006	0,0005	0,420	–	27,7
Хром (VI)	0,00362	0,00075	0,014	0,001	–	4,28
Марганец	0,01348	0,00287	0,03	0,013	–	2,23
Никель	0,00327	0,00099	0,0028	0,542	–	1,07
Медь	0,7765	0,008006	0,9	0,643	–	1,16
Цинк	5,0758	0,56970	6,0	0,781	–	1,18
Мышьяк	0,00089	0,00013	–	–	–	–
Селен	0,13350	0,02313	–	–	–	–
Стронций	0,01832	0,00348	–	–	–	–
Кадмий	0,00048	0,00014	0,0035	0,001	–	7,29
Свинец	0,01432	0,00182	0,1	0,001	–	7,14

Таблица 2

Сравнительная оценка содержания химических элементов в цельной крови и подкожной интерстициальной жидкости

Вещество	Кровь, мг/ дм³		ПИЖ, мг/ дм³					г
	М	m	М	m	Межгрупповое разли- чие (p)	Кратность		
						пов.	сниж.	
Ванадий	0,00018	0,00006	0,00045	0,00012	0,014	2,59	–	0,35
Хром(VI)	0,00362	0,00075	0,00373	0,00092	0,917	1,03	–	0,82
Марганец	0,01348	0,00287	0,01188	0,00269	0,643	–	1,13	0,93
Никель	0,00327	0,00099	0,01251	0,00372	0,05	3,83	–	0,72
Медь	0,7765	0,0080	0,40730	0,02426	0,001	–	1,91	0,43
Цинк	5,0758	0,5697	0,55070	0,03832	0,001	–	9,22	0,47
Мышьяк	0,00089	0,00013	0,00139	0,00028	0,302	1,57	–	0,52
Селен	0,13350	0,02313	0,05109	0,00635	0,001	–	2,61	0,37
Стронций	0,01832	0,00348	0,1034	0,01961	0,001	5,64	–	0,24
Кадмий	0,00048	0,00014	0,00051	0,00007	0,818	1,07	–	0,87
Свинец	0,01432	0,00182	0,00776	0,00133	0,001	–	1,84	0,54

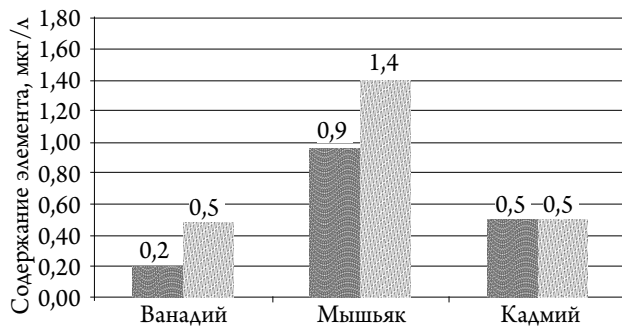


Рис. 1. Уровни содержания ванадия, мышьяка, кадмия в цельной крови и ПИЖ добровольцев

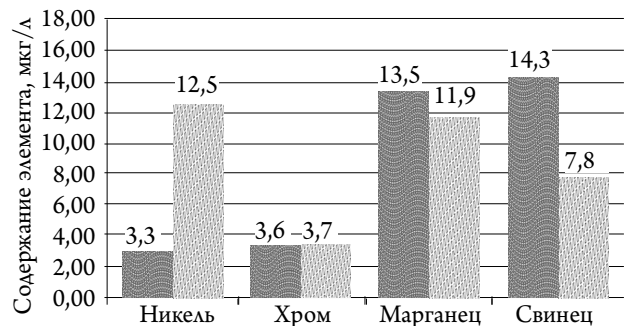


Рис. 2. Уровни содержания никеля, хрома, марганца и свинца в цельной крови и ПИЖ добровольцев

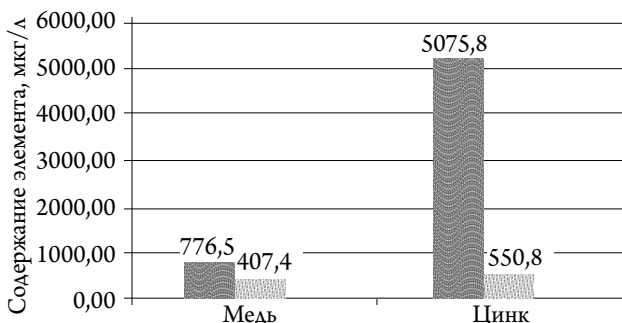


Рис. 3. Уровни содержания меди и цинка в цельной крови и ПИЖ добровольцев

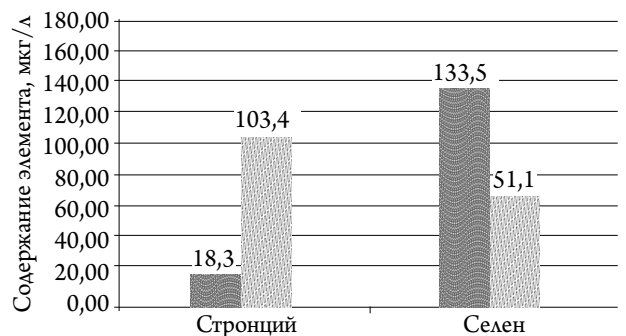


Рис. 4. Уровни содержания стронция и селена в цельной крови и ПИЖ добровольцев

■ Сыворотка ■ ПИЖ

Полученные результаты свидетельствуют о сопоставимости концентраций хрома, марганца, никеля, мышьяка, кадмия в ПИЖ и крови, что является перспективным для задач биомониторинга дозовой нагрузки у работников машиностроительных и металлургических производств. При исследовании концентраций ванадия и стронция, меди, цинка, селена и свинца установлены достоверные различия уровней данных металлов в цельной крови и ПИЖ, но корреляционная связь при этом прослеживалась для меди и цинка. Полученные данные требуют уточнения и проведения дополнительных исследований для установления зависимости изменения концентрации данных веществ в крови и ПИЖ человека и разработки возможных коэффициентов пересчета.

Низкие определяемые концентрации меди, цинка, селена и свинца в ПИЖ могут быть обусловлены спецификой способа отбора ПИЖ, который возможно не позволяет экстрагировать металлы, обладающие сродством к высокомолекулярным соединениям, например меланину [9]. Рядом исследователей установлено высокое сродство меланина к ионам многовалентных металлов, процент связывания цинка при этом составляет 37%, свинца — 62%. [9]. Высокая концентрация свинца в крови по отношению к ПИЖ также может обуславливаться способностью этого металла накапливаться в красных кровяных клетках [11].

На сегодняшний день в аннотируемых источниках литературы данных о концентрации тяжелых металлов в подкожной интерстициальной жидкости, а также о

корреляции концентрации данных веществ в крови и подкожной жидкости крайне мало. Однако, в связи с разработкой малоинвазивных устройств для экспресс-диагностики, возрастает необходимость получения новых данных о подкожной интерстициальной жидкости как информативной среде [13,14]. Перспективным направлением являются исследования по созданию микроигловых патчей для биомониторинга дозовой нагрузки металлами у работающих, однако сопоставимость концентраций тяжелых металлов в ПИЖ, цельной крови требует дополнительных исследований, которые будут учитывать погрешности формируемые при отборе ПИЖ при помощи полимерных микроигловых аппликаторов [6].

Выводы. 1. При сравнительной оценке содержания металлов в крови и подкожной интерстициальной жидкости установлено, что содержание хрома, марганца, мышьяка, кадмия в данных биосредах не имеет значимых статистических различий и имеет сильную корреляционную связь ($r=0,52-0,93$). 2. Несмотря на то, что содержание ряда металлов (никель, медь, цинк, свинец) имеет статистически достоверные различия по уровню содержания в крови и ПИЖ, для них установлены прочные корреляционные связи содержания в биосредах ($r=0,43-0,72$). 3. Для подтверждения полученных данных и установления коэффициентов пересчета концентрации металлов необходимо проведение дальнейших исследований на группах добровольцев, подвергающихся экспозиции металлов в условиях рабочей зоны машиностроительных и металлургических производств. 4.

ПИЖ может явиться перспективной средой для решения задач биомониторинга дозовой нагрузки у работников машиностроительных и металлургических производств, что позволит повысить эффективность мероприятий по снижению риска негативного воздействия факторов рабочей среды на здоровье работающих.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (см. REFERENCES стр. 6–14)

1. Алексеева О.Г., Дуева Л.А. Аллергия к промышленным химическим соединениям: монография. — М., 1978. — 23 с.
2. Климов И. А., Трифонова Т. А. // Изв. Самарского НЦ РАН. — 2012. — Т. 14. — С. 45–67
3. Рукавишников В.С., Ефимова Н.В. // Казанский мед. ж-л. — 2009. — №4 — С. 28–34.
4. Симонова Н.И., Фасиков Р.М., Ларионова Т.К., Гарифуллина Г.Ф. // Мед. труда и пром. экол. — 2008. — №5 — С. 37–41.
5. Тиц Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам / Под ред. проф. Норберта У. Тица / Пер. с англ. под ред. В.В. Меньшикова. — М.: ЮНИМЕД-пресс, 2003. — 960 с.

REFERENCES

1. Alekseeva O.G., Dueva L.A. Allergy to industrial chemical compounds: monograph. — Moscow, 1978. — 23 p. (in Russian).
2. Klimov I. A., Trifonova T. A. // Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra RAN. — 2012. — Vol. 14. — P. 45–67 (in Russian).
3. Rukavishnikov V.S., Efimova N.V. // Kazanskiy med. zhurnal. — 2009. — 4. — P. 28–34 (in Russian).
4. Simonova N.I., Fasikov R.M., Larionova T.K., Garifullina G.F. // Industr. med. — 2008. — 5. — P. 37–41 (in Russian).
5. Norbert U. Tits, prof, ed. Clinical manual in laboratory tests. Translated from English by V.V. Men'shikov, ed. — Moscow: YuNIMED-press, 2003. — 960 p. (in Russian).
6. Andrey V. Romanyuk, Vasiliy N. Zvezdin, Pradnya Samant, Mark R. Prausnit // Analytical Chemistry. — 2014. — Vol. 86. — 21. — P. 10520–10523.
7. Blaurock-Busch E., Omnia R. Amin, Thanaa Rabah // Maedica (Buchar). — 2011. — Vol. 6. — 4. — P. 247–257.
8. Jaime Mendiola, José M Moreno, Manuela Roca et al. // Environmental Health. — 2011. — Vol. 10. — 1. — p. 6.
9. Jay C., John A. Butz B, Jonathan A. // American journal of ophthalmology. — № 5. — P. 888–896.
10. Kiistala U. // J. Invest. Dermatol. — 1968. — № 50. — P. 129–137.

11. Lidia Minguez-Alarcon, Jaime Mendiola, Manuela Roca, et al. // Advances in Urology. — 2012. — 11 p. doi:10.1155/2012/420893.

12. Michael Sponder, Monika Fritzer-Szekeres, Rodrig Marculescu // Vasc Health Risk Manag. — 2014. — 10. — P. 311–317.

13. Ng KW, Lau WM, Williams A.C. // Drug Deliv Transl Res. — 2015. — Vol. 5. — 4. — P. 387–396.

14. Philip R. Miller, Roger J. Narayan // J. Mater. Chem. — 2016. — 4. — P. 1379–1383

Поступила 16.06.2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Зайцева Нина Владимировна (Zaitseva N.V.),
дир. ФБУН «ФНЦ мед.-профилактич. техн. управл. рисками здоровью населения», зав. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности ГБУН ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет», акад. РАН, д-р мед. наук, проф. E-mail: znv@fcrisk.ru.

Устинова Ольга Юрьевна (Ustinova O.Yu.),
зам. дир. по клинич. работе ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», проф. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности ГБОУ ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет», д-р мед. наук. E-mail: ustinova@fcrisk.ru.

Звездин Василий Николаевич (Zvezdin V.N.),
зав. отд. гиги. детей и подростков ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», доц. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности ГБОУ ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет», канд. мед. наук. E-mail: zvezdin@fcrisk.ru.

Землянова Марина Александровна (Zemlyanova M.A.),
зав. отд. биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», проф. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности ГБОУ ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет», проф. каф. охраны окружающей среды ГБОУ ВПО «Пермский научный исследовательский политехнический университет», д-р мед. наук. E-mail: zem@fcrisk.ru.

Акафьева Татьяна Игоревна (Akaf'eva T.I.),
науч. сотр. ООО ««МИП» Микроигольные технологии». E-mail: tania.akafeva@gmail.com.