

© Землянова М.А., Зайцева Н.В., Кольдибекова Ю.В., Булатова Н.И., 2020

УДК 612.12: 616.7

Выявление омик-маркеров негативных эффектов со стороны нервной системы у детей в условиях сочетанного воздействия аэрогенного химического фактора и условий образовательной среды

М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова, Н.И. Булатова

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора,
ул. Монастырская, 82, г. Пермь, 614045, Российская Федерация

Резюме: *Введение.* Обоснование прогностических и предиктивных молекулярных биомаркеров нарушений регуляторных механизмов гомеостаза является актуальным для решения задач ранней диагностики и профилактики приоритетных неинфекционных заболеваний. *Цель исследования.* Выявление омик-маркеров негативных эффектов со стороны нервной системы у детей, подвергающихся сочетанному воздействию аэрогенного химического фактора и факторов образовательной среды. *Материалы и методы исследования.* Изучены: показатели содержания химических веществ в атмосферном воздухе и воздухе внутришкольных помещений; напряженность учебного процесса; белки плазмы крови, характеризующие негативные эффекты со стороны нервной системы у детей 7–10 лет при сочетанном воздействии факторов образовательной среды начальной ступени обучения с различными видами общеобразовательных программ и гигиенических условий. *Результаты.* У школьников группы наблюдения установлено: повышенное в 1,2–2,4 раза содержание марганца, никеля, свинца, хрома, бензола, ксилола и фенола относительно показателей у детей группы сравнения. Концентрация фенола в крови обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции. Установлены показатели нарушений образовательного процесса в виде неравномерности распределения учебной нагрузки, увеличения максимально допустимой нагрузки, увеличения в 1,2 раза интеллектуальных нагрузок, сокращения перерыва между основными и факультативными занятиями, усиления интенсивности режима обучения в 1,5 раза. Получены масс-спектры пептидов, отражающих изменения гомеостаза на молекулярном уровне. В результате установления прямой причинно-следственной связи между увеличением относительной массы ингибитора сериновой протеазы Kazal-типа 5 и повышенным содержанием фенола в крови, действием интеллектуальных нагрузок, режима и распределения учебной нагрузки ингибитор сериновой протеазы Kazal-типа 5 обоснован в качестве омик-маркера сочетанного аэрогенного воздействия фенола и факторов образовательной среды. *Выводы.* Увеличение относительной массы ингибитора сериновой протеазы Kazal-типа 5 при сочетанном аэрогенном воздействии фенола и факторов образовательного процесса является молекулярным показателем прогностически неблагоприятного вовлечения его в патогенез развития функциональных нарушений нервной системы в виде вегетососудистой дистонии.

Ключевые слова: сочетанное воздействие, аэрогенный химический фактор, факторы образовательного процесса, школьники начальных классов, протеомный профиль, омик-маркеры, негативные эффекты.

Для цитирования: Землянова М.А., Зайцева Н.В., Кольдибекова Ю.В., Булатова Н.И. Выявление омик-маркеров негативных эффектов со стороны нервной системы у детей в условиях сочетанного воздействия аэрогенного химического фактора и условий образовательной среды // *Здоровье населения и среда обитания*. 2020. № 5 (326). С. 12–17 DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-326-5-12-17>

Detection of Omic Markers of the Nervous System Adverse Effects in Children with a Combined Exposure to Airborne Chemicals and Conditions of Educational Environment

M.A. Zemlianova, N.V. Zaitseva, Yu.V. Koldibekova, N.I. Bulatova

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies,
82 Monastyrskaya Street, Perm, 614045, Russian Federation

Abstract. *Introduction:* The rationale of prognostic and predictive molecular biomarkers of malfunctioning of homeostatic control mechanisms is important for solving the tasks of early diagnosis and prevention of priority noncommunicable diseases. Our *objective* was to detect omic markers of adverse effects of a combined exposure to airborne contaminants and factors of educational environment on the nervous system of children. *Materials and methods:* We studied school outdoor and indoor concentrations of certain air pollutants, the intensity of the educational process, and plasma proteins characterizing nervous system adverse effects in children aged 7–10 with a combined exposure to various factors of educational environment in the primary school with various types of educational programs and hygienic conditions. *Results:* We established that blood manganese, nickel, lead, chromium, benzene, xylene, and phenol levels among the schoolchildren of the study group were 1.2–2.4 times higher than those in the control group. The phenol concentration in blood is a proven marker of the inhalation exposure. We also identified such violations of the educational process as uneven distribution of study loads, an increase in the maximum permissible load, a 1.2-fold increase in intellectual loads, shortening of the break between basic and optional classes, and a 1.5-fold increase in intensity of the training mode. We obtained mass spectra of the peptides reflecting changes in homeostasis on the molecular level. As a result of establishing a direct causal relationship between the increase in the relative mass of a Kazal-type 5 serine protease inhibitor, the increased blood phenol level, effects of intellectual loads, routine and distribution of the training load, the Kazal-type 5 serine protease inhibitor was proved to be an omic marker of the combined exposure to ambient phenol and the factors of educational environment. *Conclusions:* An increase in the relative mass of the Kazal-type 5 serine protease inhibitor following the combined exposure to airborne phenol and educational factors is a molecular indicator of its prognostically unfavorable involvement into the pathogenesis of functional disorders of the nervous system in the form of vegetative-vascular dystonia.

Key words: combined exposure, airborne chemicals, educational process factors, primary school children, proteomic profile, omic markers, adverse effects.

For citation: Zemlianova MA, Zaitseva NV, Koldibekova YuV, Bulatova NI. Detection of omic markers of the nervous system adverse effects in children with a combined exposure to airborne chemicals and conditions of educational environment. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2020; (5(326)):12–17. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-326-5-12-17>

Author information: Zaitseva N.V., <https://orcid.org/0000-0003-2356-1145>; Zemlianova M.A., <https://orcid.org/0000-0002-8013-9613>; Koldibekova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0002-3924-4526>; Bulatova N.I., <https://orcid.org/0000-0003-3392-9097>.

Введение. Улучшение и укрепление здоровья детей и подростков является ключевым направлением Европейской стратегии охраны здоровья детей и подростков¹. В последнее десятилетие в Российской Федерации сохраняются отрицательные тенденции ухудшения физического развития и состояния здоровья детей, являющихся в перспективе трудовым, интеллектуальным и репродуктивным потенциалом общества [1]. Существенную роль в формировании здоровья подрастающего поколения играет состояние окружающей и внутришкольной среды и ее соответствие санитарно-гигиеническим нормативам, а также факторы образовательного процесса [2].

Воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды способно приводить к истощению резервных возможностей детского организма, особенно на начальных этапах обучения в школе при увеличении нагрузки на функциональные системы. Подтверждением этого является рост и распространенность хронических заболеваний, функциональных нарушений органов и систем организма, в частности, со стороны нервной системы [2]. По результатам отечественных исследований установлено, что химические факторы окружающей среды, обладающие тропностью к нервной системе (бензол, толуол, фенол, ксилолы, марганец, никель и др.), вызывают нейроанатомические и функциональные изменения на любом уровне организации системы. Это проявляется в виде нарушения синтеза и высвобождения нейротрансмиттеров из синапса, изменения порога или скорости нейротрансмиссии, ухудшения в ощущениях, зрении, слухе, осязании, рефлексам, памяти и внимании, что приводит к развитию астено-невротических и вегетативных расстройств [3].

Кроме этого, в последние годы особое внимание уделяется факторам современного образовательного процесса, способным оказывать негативное воздействие на здоровье учащихся, что может проявляться ростом астено-невротических реакций и синдромов дисфункции соматических органов у учащихся [4–5].

В связи с этим в рамках персонализированной медицины актуальным является обоснование прогностических и предиктивных молекулярных биомаркеров нарушений регуляторных механизмов гомеостаза. Это продиктовано необходимостью ранней диагностики и профилактики развития неинфекционных заболеваний [6–7]. Современные технологии протеомного анализа, сочетающие в себе двумерный электрофорез и tandemную хроматомасс-спектрометрию, позволяют с высокой степенью эффективности идентифицировать молекулярные омик-маркеры негативных эффектов как отдельных элементов

этиопатогенетических механизмов формирования болезни [8–10], в том числе ассоциированных с сочетанным воздействием внешнесредовых химических факторов, факторов образовательного процесса и образа жизни.

Целью исследования явилось выявление омик-маркеров негативных эффектов со стороны нервной системы у детей, подвергающихся сочетанному воздействию аэрогенного химического фактора и факторов образовательной среды.

Материалы и методы исследования. Гигиеническая оценка качества атмосферного воздуха на территории общеобразовательных организаций, воздуха в учебных помещениях начальных классов проведена по данным измерений, выполненных специалистами отдела химико-аналитических методов исследования ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» в 2019 году. Оценку данных проводили в соответствии с предельно допустимыми концентрациями загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений².

Гигиеническая оценка режима образовательного процесса проводилась в соответствии с требованиями нормативных документов³ по следующим критериям: начало занятий и сменность обучения, равномерность распределения учебной нагрузки в течение дня и недели, длительность малых перемен и перерыва между сменами, продолжительность уроков, объем образовательной нагрузки, чередование различных по сложности предметов в течение дня, максимально допустимая аудиторная недельная нагрузка, длительность перерыва между основными и факультативными занятиями, организация физкультурно-оздоровительных занятий, использование в учебном процессе технических средств обучения, продолжительность каникул.

Оценку напряженности учебной деятельности осуществляли по показателям, представленным в Федеральных Рекомендациях оказания медицинской помощи обучающимся Российской Федерации развития школьной и университетской медицины и здоровья⁴: интеллектуальные, сенсорные, эмоциональные нагрузки, монотонность нагрузок и режим работы.

Углубленным обследованием охвачено 50 человек в возрасте 7–10 лет, обучающихся в 1-х и 4-х классах образовательных учреждений с различными программами обучения. Группу наблюдения составили 32 школьника, обучающихся в первом классе общеобразовательного учреждения по дополнительной образовательной программе физкультурно-спортивного направления. Общеобразовательное учреждение данного типа обучения расположено на территории крупного промышленного центра с

¹ Европейская стратегия охраны здоровья детей и подростков: 2015–2020 гг.: Инвестируя в будущее детей, 2014. Доступно по: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0003/253776/64wd12_Rus_InvestCAHstrategy_140440.pdf. Ссылка активна на 25 января 2020.

² ГН 2.1.6.3492–17 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений» (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 22.12.2017 № 165).

³ СанПиН 2.4.2.2821–10 «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям и организации обучения в общеобразовательных учреждениях» (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.12.2010 № 189).

⁴ ФР РОШУМЗ-16–2015 «Гигиеническая оценка напряженности учебной деятельности обучающихся». М.: ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России, 2016. 610 с.

размещением предприятий преимущественно химического, приборостроительного и нефтеперерабатывающего видов производств. В качестве группы сравнения выбрано 18 детей, обучающихся по традиционной образовательной программе начальной школы, расположенной на территории историко-культурного административного центра с отсутствием деятельности объектов промышленных производств.

Критериям включения детей в выборку для проведения исследований являлись: наличие основного и/или сопутствующего диагноза в виде вегето-сосудистой дистонии и/или астено-вегетативного синдрома (МКБ-10: МКБ-10: F90, G90.8); возраст 7–10 лет; обучение в общеобразовательных организациях с различными образовательными программами; длительность проживания на изучаемой территории (6 лет и более); средний уровень материального обеспечения; удовлетворительные гигиенические условия проживания; благоприятный психологический климат в семье и в образовательном дошкольном учреждении; отсутствие профессиональных вредностей у родителей в период беременности. Критериями исключения детей из выборки являлись: наличие острых инфекционных заболеваний не менее чем в течение 4 недель до начала исследования; прием лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на нервную систему, менее чем за 30 дней до начала исследования; девиантное поведение.

Наличие указанных заболеваний у детей как один из основных критериев включения в выборку являлось необходимым для проведения исследований изменений протеомного профиля плазмы крови и выявления молекулярных маркеров, прямо или косвенно отражающих элементы патогенетических механизмов развития негативных эффектов со стороны нервной системы, ассоциированных с воздействием разнородных факторов.

Каждый законный представитель ребенка подписал информированное добровольное согласие на участие в обследовании несовершеннолетнего. Обследование детей осуществляли с обязательным соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта исследования, изложенных в Хельсинкской декларации с дополнениями 2013 года, в гармонизации с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика».

Химико-аналитическое исследование крови на содержание марганца, никеля, свинца, хрома, бензола, толуола, о-, м-, п-ксилолов, фенола,

формальдегида осуществляли в соответствии с действующими в Российской Федерации методическими указаниями: МУК 4.1.765–99⁵, МУК 4.1.2108–06⁶, МУК 4.1.3230–14⁷, МУК 4.1.2111–06⁸ с использованием масс-спектрометра с индуктивно связанной аргонной плазмой Agilent 7500cx (США), жидкостного хроматографа с диодно-матричным детектором Agilent 1200 (США) и Хроматэк Кристалл 5000.2 (Россия). Все использованные в обследовании приборы входят в государственный реестр средств измерения и прошли своевременную метрологическую поверку.

Выявление и оценку зависимости концентрации изучаемых химических веществ в крови от суммарной суточной концентрации из атмосферного воздуха выполняли для каждого химического вещества, имеющего достоверные отклонения от показателя группы сравнения, на основании линейной математической модели. При установлении адекватности модели, отражающей исследуемую зависимость, повышенную концентрацию вещества в крови принимали в качестве маркера хронической экспозиции.

Выявление омик-маркеров негативных эффектов выполнено на основании исследования протеомного профиля плазмы крови с применением технологии двумерного электрофореза белков в полиакриламидном геле в соответствии с их электрофоретической подвижностью (функцией длины полипептидной цепочки или молекулярной массы, а также укладки белковой молекулы, посттрансляционных модификаций и других факторов). Полученные электрофореграммы плазмы крови визуализировали методом окраски серебром и с помощью системы гель-документирования (BioRad, США) осуществляли сопоставление белковых пятен по их интенсивности с последующим выделением значимых пятен с помощью программного комплекса PDQuest (Bio-Rad, США). Методом жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим анализом (на хроматографе UltiMate 3000 (Германия) и тандемном масс-спектрометре ABSciex 4000 QTRAP с источником ионизации Nanospray 3 (Канада) осуществляли хроматографическое разделение значимых пятен с последующим измерением масс-спектров в режиме информационно-зависимого эксперимента. Полученные результаты тандемного эксперимента обрабатывали программой ProteinPilot, версия 4.5 (AB Sciex) с идентификацией белков по базе данных UniProt_sprot_fasta (от 24.11.2017), с выборкой по таксону Homo Sapiens. Установление гена, которому соответствует идентифицированный

⁵ МУК 4.1.765–99 «Газохроматографический метод количественного определения предельных и ароматических углеводородов (бензол, толуол, этилбензол, о-, м-, п-ксилол) в биосредах крови» // Определение химических соединений в биологических средах: Сборник МУК 4.1.763–4.1.779–99. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. С. 24–32.

⁶ МУК 4.1.2108–06 «Определение массовой концентрации фенола в биосредах (кровь)» // Определение вредных веществ в биологических средах: Сборник МУК 4.1.2102–4.1.2116–06. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. С. 74–85.

⁷ МУК 4.1.3230–14 «Методика измерений массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой» // Определение химических соединений и элементов в биологических средах: Сборник методических указаний. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Роспотребнадзора, 2015. С. 96–122.

⁸ МУК 4.1.2111–06 «Измерение массовой концентрации формальдегида, ацетальдегида, пропионового альдегида, масляного альдегида и ацетона в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» // Определение вредных веществ в биологических средах. Сборник МУК 4.1.2102–4.1.2116–06. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. С. 110–124.

белок, выполнено с помощью базы данных HGNC database of human gene name (<https://www.genenames.org/>).

Выявление и оценка зависимости содержания идентифицированных белков в плазме крови от концентрации химического вещества в крови и значения фактора образовательного процесса выполнено с помощью многофакторного регрессионного анализа. Достоверность полученных моделей оценивали на основе дисперсионного анализа с помощью F-критерия Фишера. Достоверность параметров модели оценивали по t-критерию Стьюдента [11].

Результаты исследования. Оценка качества атмосферного воздуха на территории общеобразовательной организации с программой обучения физкультурно-спортивного направления относительно территории с размещением образовательной организации со стандартной системой обучения показала превышения среднесуточных предельно допустимых концентраций по фенолу до 1,3 ПДКсс, воздуха учебных помещений — по формальдегиду до 1,2 ПДКсс и фенолу — до 1,1 ПДКсс (табл. 1).

Превышений суточных гигиенических нормативов в атмосферном воздухе по формальдегиду, никелю и хрому не установлено. Бензол, м-ксилол, марганец и свинец идентифицированы на уровне ниже предела определения в атмосферном воздухе на территории школ и воздухе учебных помещений, никель и хром — только в воздухе учебных помещений. Оценить содержание толуола, о- и п-ксиолов не представляется возможным в связи с отсутствием для них установленных ПДКсс.

Результаты химико-аналитического исследования биосред показали, что в крови детей группы наблюдения установлено повышенное в 1,2–2,4 раза содержание марганца, никеля, свинца и хрома относительно показателей у детей в группе сравнения ($p = 0,0001–0,021$). Зарегистрированы статистически достоверные различия содержания бензола, о-, м-, п-ксиолола и фенола в крови детей группы наблюдения относительно показателей у детей в группе

сравнения. Кратность превышения составила 1,2–1,5 раза ($p = 0,0001–0,035$).

Из 11 анализируемых химических факторов получены адекватные модели зависимости: содержания фенола в крови от его концентрации в атмосферном воздухе ($R^2 = 0,17$; $p = 0,0001$), описываемая уравнением вида: $y = 0,007 + 1,096x$ (область определения модели $[0,00001; 0,0071]$, мг/дм³); содержания фенола в крови от его концентрации в воздухе внутри учебных помещений ($R^2 = 0,17$; $p = 0,0001$): $y = 0,006 + 1,4318x$ (область определения модели $[0,00001; 0,0070]$, мг/дм³). На основании полученных моделей концентрация фенола в крови выше 0,014 мг/дм³ обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции.

Анализ факторов образовательного процесса на соответствие требованиям СанПиН 2.4.2.2821–10 показал, что из 13 факторов учебной нагрузки в группе наблюдения 5 факторов не соответствуют требованиям: равномерности распределения учебной нагрузки в течение недели и дня, максимально допустимая аудиторная недельная нагрузка, длительность перерыва между основными и факультативными занятиями, использование в учебном процессе технических средств обучения. Установлено, что у школьников группы наблюдения наибольший объем учебной нагрузки приходится на понедельник, а менее занятыми днями являются вторник и среда. Это свидетельствует о неравномерности распределения учебной нагрузки в течение недели и повышенной максимально допустимой аудиторной недельной нагрузки, что не соответствует требованиям п. 10.11. СанПиН 2.4.2.2821–10. Наиболее трудные предметы (математика, русский язык) для обучающихся 1-х классов проводятся на втором уроке только в пятницу, а в другие дни один из трудных предметов (русский язык) проводится на 1-м уроке, а математика на 3-м, что не соответствует п. 10.8 СанПиН 2.4.2.2821–10. Между началом факультативных занятий и последним уроком перерыв у школьников группы наблюдения составляет 20–30 минут, что не соответствует

Таблица 1. Сравнительная оценка качества атмосферного воздуха и воздуха учебных помещений общеобразовательных организаций по данным среднесуточных замеров, 2019 г.

Table 1. Comparative assessment of the outdoor and indoor air quality in school classrooms based on average daily measurements, 2019

Наименование вещества / Chemicals	ПДКсс, мг/м ³ / MPCav.d., mg/m ³	Доли ПДКсс химических веществ / Percent of average daily MPC of the chemicals			
		атмосферный воздух на территории школы / ambient air within school grounds		воздух учебных помещений школы / indoor air in classrooms	
		группы наблюдения / observation groups	группы сравнения / comparison groups	группы наблюдения / observation groups	группы сравнения / comparison groups
Фенол / Phenol	0,006	1,25	0,47	1,07	0,5
Формальдегид / Formaldehyde	0,01	0,15	0,04	1,24	0,22
Бензол* / Benzene*	0,1	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl
Толуол** / Toluene**	–	–	–	–	–
О-ксилол** / O-xylene**	–	–	–	–	–
М-ксилол* / M-xylene*	0,04	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl
П-ксилол** / P-xylene**	–	–	–	–	–
Марганец* / Manganese*	0,001	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl
Свинец* / Lead*	0,0003	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl	нпо / bdl
Никель* / Nickel*	0,001	0,016	0,013	нпо / bdl	нпо / bdl
Хром* / Chromium*	0,0015	0,029	0,019	нпо / bdl	нпо / bdl

Примечания: * — отмечены вещества, все значения которых ниже предела определения (нпо);

** — отмечены вещества, для которых отсутствует ПДКсс.

Notes: *all concentrations of these chemicals were below detection limit (bdl); **no average daily MPC available.

требованиям п. 10.6 СанПиН 2.4.2.2821–10, регламентирующим продолжительность перерыва не менее 45 минут между началом факультативных занятий и последним уроком. В течение одной учебной недели в 4-м классе проведено 23 урока, на 8 из которых работа с ТСО не предусмотрена, на 13 уроках показ статических или динамических изображений на проекторах использован рационально (в соответствии с п. 10.18. СанПиН 2.4.2.2821–10), на 2 уроках – ТСО использованы недостаточно рационально, т. к. работа с данными видами средств осуществлялась 18–20 минут, что частично не соответствует п. 10.18. СанПиН 2.4.2.2821–10. В 1-м классе проведен 21 урок, на 13 из которых работа с ТСО не предусматривалась, на 8 уроках ТСО использовано рационально (демонстрация презентации до 10 минут от длительности урока), что соответствует п. 10.18. СанПиН 2.4.2.2821–10.

При этом в группе сравнения практически все факторы образовательного процесса, за исключением уменьшения длительности перерыва малых перемен и между сменами, нерационального использования ТСО в 1-х классах, соответствовали требованиям, представленным в нормативном документе.

На основании оценки напряженности учебной деятельности в соответствии с требованиями ФР РОШУМЗ-16-2015 в группе наблюдения и сравнения в первых и четвертых классах к оптимальным относятся сенсорные и эмоциональные нагрузки, к допустимым – интеллектуальные нагрузки, монотонность нагрузок и режим работы (табл. 2).

При этом в первых классах группы наблюдения монотонность нагрузок ($1,8 \pm 0,1$ у.е.) в 1,5 раза ниже относительно данного показателя ($2,01 \pm 0,1$ у.е.) в группе сравнения ($p = 0,0001$), а напряженность режима работы ($2,3 \pm 0,1$ у.е.), напротив, в 1,5 раза выше ($p = 0,0001$). В четвертом классе группы наблюдения напряженность учебного процесса по эмоциональным нагрузкам ($1,4 \pm 0,1$ у.е.), их монотонности ($2,1 \pm 0,1$ у.е.) и режиму работы ($2,3 \pm 0,1$ у.е.) выше в 1,2–1,5 раза относительно аналогичных показателей в группе сравнения ($p = 0,0001$). Значение интеллектуальных нагрузок в четвертых классах группы наблюдения ($2,3 \pm 0,1$ у.е.) в 1,2 раза ниже относительно группы сравнения ($p = 0,0001$). На основании достоверных различий между показателями в первых и четвертых классах группы наблюдения и сравнения интеллектуальные нагрузки, эмоциональные нагрузки, монотонность нагрузок и режим работы

обоснованы в качестве маркерных показателей фактора учебного процесса.

Сравнительный анализ результатов построения протеомных карт плазмы крови детей исследуемых выборок позволил выявить наличие достоверных различий между относительным объемом некоторых белковых пятен у детей группы наблюдения и группы сравнения. В результате идентификации достоверно отличающихся белковых пятен и установленной адекватной модели зависимости содержания фенола в крови от его содержания в атмосферном воздухе и воздухе учебных помещений получены масс-спектры, содержащие информацию о пептиде, входящем в состав белка, характеризующего преимущественно регуляцию протеолиза. Таким пептидом является ингибитор сериновой протеазы Kazal-типа 5, роль которого заключается как в процессах защиты и пластичности нейронов, так и в дегенерации синаптических связей в мозге человека [12–16].

Установлен ген SPINK5, кодирующий данный белок, и соответствующий ему код в базе данных Swiss Prot – Q9NQ38. В результате построения многофакторных моделей установлена прямая причинно-следственная связь между увеличением относительной массы пептида ингибитора сериновой протеазы Kazal-типа 5 и повышенным содержанием фенола в крови, действием интеллектуальных нагрузок, режима работы, распределения учебной нагрузки в течение дня и недели ($R^2 = 0,79$; $b_0 = -4155,49$; $b_1 = 1386,34$; $b_2 = 21096,68$; $b_3 = 76,71$; $b_4 = 76,71$; $b_5 = 389,28$; $b_6 = 155,68$; $p = 0,0001$).

Таким образом, в условиях хронического аэрогенного воздействия фенола, сохраняющего действия интеллектуальных нагрузок, режима работы, неравномерного распределения учебной нагрузки в течение дня и недели, отсутствия адекватных мер профилактики выявленные изменения протеома могут приводить к нарушению восстановления аксонов нервной системы, к изменению развития и регуляции генов, отвечающих за физиологическое функционирование нервной клетки. Данные патогенетические молекулярные изменения являются прогностически неблагоприятными для развития функциональных нарушений нервной системы в последующие возрастные периоды и требуют разработки профилактических мер для минимизации рисков развития вегето-сосудистой дистонии у детей. Анализ функций идентифицированных белков позволяет сформировать принципы построения превентивных мер, направленных на предупреждение

Таблица 2. Показатели напряженности учебного процесса у детей

Table 2. Indicators of intensity of the educational process in children

Показатель напряженности / Indicator of work tension	Группа наблюдения / Observation group		Группа сравнения / Comparison group	
	1 класс / Grade 1	4 класс / Grade 4	1 класс / Grade 1	4 класс / Grade 4
Интеллектуальные нагрузки / Mental load	$2,0 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1^{**}$	$1,9 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$
Сенсорные нагрузки / Sensory load	$1,3 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$
Эмоциональные нагрузки / Emotional stress	$1,2 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1^{**}$	$1,3 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$
Монотонность нагрузок / Monotonous tasks	$1,8 \pm 0,1^*$	$2,1 \pm 0,1^{**}$	$2,7 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$
Режим работы / School routine	$2,3 \pm 0,1^*$	$2,3 \pm 0,1^{**}$	$1,5 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$

Примечания: * – достоверность различий между показателями в 1-х классах группы наблюдения и сравнения, $p \leq 0,05$;

** – достоверность различий между показателями в 4-х классах группы наблюдения и сравнения, $p \leq 0,05$.

Notes: * – significance of intergroup differences between the indicators in the first graders, $p \leq 0,05$;

** – significance of intergroup differences between the indicators in the fourth graders, $p \leq 0,05$.

развития негативных эффектов со стороны нервной системы у детей в виде снижения дополнительных случаев заболеваний в условиях сохраняющегося сочетанного воздействия изучаемых факторов.

Выводы

1. В атмосферном воздухе на территории образовательной организации с дополнительной общеобразовательной программой физкультурно-спортивного направления установлено превышение среднесуточных предельно допустимых концентраций по фенолу до 1,3 ПДКсс, в воздухе учебных помещений – по формальдегиду до 1,2 ПДКсс и фенолу – до 1,1 ПДКсс.

2. У экспонированных детей установлены повышенные концентрации в крови марганца, никеля, свинца, хрома, бензола, о-, м-, п-ксилола и фенола. Концентрация фенола в крови выше 0,014 мг/дм³ обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции.

3. Маркерными показателями факторов учебной нагрузки школьников начального общего образования являются неравномерное распределение учебной нагрузки в течение дня и недели, сокращение длительности перерыва между основными и факультативными занятиями, увеличение интеллектуальных нагрузок и режима учебной работы.

4. Увеличение относительной массы ингибитора сериновой протеазы Kazal-типа 5 при сочетанном воздействии факторов окружающей, внутришкольной среды и образовательного процесса является молекулярным маркером вовлечения в патогенез прогностически неблагоприятного процесса функциональных нарушений нервной системы в виде вегето-сосудистой дистонии.

Список литературы (пп. 3, 5, 7, 12–16 см. References)

1. Кучма В.Р. Охрана здоровья детей и подростков в национальной стратегии действий в интересах детей на 2012–2017 // Гигиена и санитария. 2013. № 6. С. 26–30.
2. Назаров В.А. Сравнительный анализ уровня адаптации и психосоматического здоровья школьников Москвы и Подмосковья при сочетанном воздействии факторов окружающей среды // Вестник РУДН, Серия Экология и безопасность жизнедеятельности. 2012. № 2. С. 57–62.
4. Акарачкова Е.С., Вершинина С.В. Синдром вегетативной дистонии у современных детей и подростков // Педиатрия. 2011. Т. 90, № 6. С. 131–136.
6. Вялков А.И., Мартынич С.А., Полесский В.А., Ковров Г.В. Концепция персонализированной медицины в предметной области «нейромедицина» на технологической платформе «Медицина здоровья» // Здравоохранение Российской Федерации. 2014. Т. 58, № 6. С. 4–9.
8. Дон Е.С., Тарасов А.В., Эпштейн О.И., Тарасов С.А. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62, № 1. С. 52–59.
9. Мошковский С.А. Омикс-биомаркеры и ранняя диагностика // Биомедицинская химия. 2017. Т. 63, № 5. С. 369–372.
10. Ткачук Е.А., Филиппов Е.С., Жданова-Заплевичко И.Г. Состояние здоровья школьников в условиях реформирования образования // Сибирский медицинский журнал. 2012. № 3. С. 14–17.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика. 1998. 459 с.

References

1. Kuchma VR. Healthcare of children and adolescents in national strategy for action for children for 2012–2017. *Gigiena i Sanitariya*. 2013; (6):26–30. (In Russian).
2. Nazarov VA. The comparative analysis of adaptation level and psychosomatic health of schoolboys of Moscow and Moscow suburbs at combination influence of environment factors. *Vestnik RUDN, Seriya Ekologiya i Bezopasnost' Zhiznedeiatel'nosti*. 2012; (2):57–62. (In Russian).
3. Guidelines for Neurotoxicity Risk Assessment. Risk Assessment Forum. U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC EPA/630/R-95/001F April 1998. Available at: www.epa.gov/neurotox.pdf. Accessed: 25 Jan 2020.
4. Akarachkova ES, Vershinina SV. Vegetative dystonia syndrome in modern children and adolescents. *Pediatrics*. 2011; 90(6):131–136. (In Russian).
5. Craft GE, Chen A, Nairn AC. Recent advances in quantitative neuroproteomics. *Methods*. 2013; 61(3):186–218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.04.008>
6. Vyalkov AI, Martynchik SA, Poleskiy VA, et al. The concept of personalized medicine in the domain “Neuromedicine” at the technological platform “Medicine of Health”. *Zdravookhraneniye Rossiiskoy Federatsii*. 2014; 58(6):4–9. (In Russian).
7. Golubnitschaja O, Costigliola V. General Report & Recommendations in Predictive, Preventive and Personalised Medicine 2012: White Paper of the European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine. *EPMA Journal*. 2012; 3(1):1–53. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.1186/1878-5085-3-14>
8. Don ES, Tarasov AV, Epshtein OI, et al. The biomarkers in medicine: Search, choice, study and validation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2017; 62(1):52–59. (In Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-52-59>
9. Moshkovskii SA. Omics biomarkers and early diagnostics. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2017; 63(5):369–372. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.18097/PBMC20176305369>
10. Tkachuk EA, Filippov ES, Zhdanova-Zaplevichko IG. The schoolchildren health in the conditions of education reforming. *Sibirskii Medicinskii Zhurnal*. 2012; (3):14–17. (In Russian).
11. Glants S. *Biomedical statistics*. Moscow: Praktika Publ. 1998. 459 p. (In Russian).
12. Pamirsky IE, Borodin EA, Shtarberg MA. *Regulation of proteolysis of plant and animal inhibitors*. Publisher: Lambert Academic Publishing GmbH & Co, 2012. 96 p.
13. Almonte AG, Sweatt JD. Serine proteases, serine protease inhibitors, and protease-activated receptors: roles in synaptic function and behavior. *Brain Res*. 2011; 1407:107–122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.06.042>
14. Tripathi LP, Sowdhamini R. Genome-wide survey of prokaryotic serine proteases: Analysis of distribution and domain architectures of five serine protease families in prokaryotes. *BMC Genomics*. 2008; 9:549. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-549>
15. Dalva MB, McClelland AC, Kayser MS. Cell adhesion molecules: signalling functions at the synapse. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8:206–220. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn2075>
16. Lee TW, Tsang VW, Birch NP. Synaptic plasticity-associated proteases and protease inhibitors in the brain linked to the processing of extracellular matrix and cell adhesion molecules. *Neuron Glia Biol*. 2008; 4(3):223–34. DOI: <https://doi.org/10.1017/s1740925X09990172>

Контактная информация:

Землянова Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
e-mail: zem@fcrisk.ru

Corresponding author:

Marina A. Zemlianova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biochemical and Cytogenetic Diagnostic Methods, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies
e-mail: zem@fcrisk.ru