

РИСКОМЕТРЫ И МАРКЕРЫ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

Савченко О.А.^{1, 2}, Новикова И.И.¹, Плотникова О.В.³, Савченко О.А.³

¹ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора

²БУЗОО «Территориальный центр медицины катастроф» Министерства здравоохранения Российской Федерации

³ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Авторы:

Савченко Олег Андреевич – к.б.н., ведущий научный сотрудник ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора; врач-методист организационно-методического отдела БУЗОО «Территориальный центр медицины катастроф» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Новикова Ирина Игоревна - д.м.н., профессор, директор ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора

Плотникова Ольга Владимировна - д.м.н., доцент, заведующий кафедрой гигиены труда, профпатологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России

Савченко Ольга Анатольевна - к.м.н., доцент кафедры госпитальной педиатрии с курсом ДПО ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России

Автор, ответственный за переписку:

Савченко Олег Андреевич, 630108, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, д.7, к.103; Savchenko01969@mail.ru

DOI: 10.61634/2782-3024-2024-13-17-29

Цель исследования – провести анализ научных исследований по установлению рискометров и маркеров старения, для принятия комплекса мер по профилактике ускоренного старения и развития профессиональных заболеваний у трудового контингента, в том числе с использованием моделей на лабораторных животных.

Материал и методы: аналитические, токсикологические, гигиенические и статистические методы исследования. Объектом исследования явились результаты собственных оригинальных исследований по изучению влияния факторов производственной среды (вибрация, шум, 4-х компонентная смесь углеводородов) на организмах модельных животных, а также опубликованный материал научных исследований по установлению рискометров и маркеров старения.

Результаты и их обсуждение. В исследовании определена прямая зависимость между полом, возрастом и длительностью воздействия факторов производственной среды на модельные организмы, подвергнутые 90-дневному воздействию факторов производственной вредности, что позволило установить рискометры и маркеры преждевременного старения у животных опытных групп, в сравнении с группой контроля. Полученные опытным путём результаты будут способствовать принятия мер по здоровьесбережению трудового контингента. **Выводы.** Определена ведущая роль своевременного принятия комплекса здоровьесберегающих мер по предупреждению развития профессиональных заболеваний у трудового контингента, на основе установленных рискометров и маркеров ускоренного старения с использованием организмов модельных животных.

Ключевые слова: факторы производственной среды; длительность воздействия; модельные животные; рискометры и маркеры старения; пол; биологический возраст

RISK METERS AND MARKERS OF ACCELERATED AGING

O.A. Savchenko^{1,2}, I.I. Novikova¹, O.V. Plotnikova³, O.A.Savchenko³

¹Federal Budgetary Institution "Novosibirsk Research Institute of Hygiene" of Rospotrebnadzor

²BUZO "Territorial Center for Disaster Medicine"

³Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Annotation. The purpose of the study is to analyze scientific research on the establishment of risk meters and markers of aging, in order to take a set of measures to prevent accelerated aging and the development of occupational diseases in the working population, including using models on laboratory animals. **Material and methods:** analytical, toxicological, hygienic and statistical research methods. The object of the study was the results of our own original research on the influence of environmental factors (vibration, noise, 4-component mixture of hydrocarbons) on the organisms of model animals, as well as published research material on the establishment of risk meters and markers of aging. **The results and their discussion.** The study determined a direct relationship between gender, age and duration of exposure to environmental factors on model organisms exposed to 90-day exposure to occupational hazards, which made it possible to establish risk meters and markers of premature aging in animals of experimental groups, compared with the control group. The results obtained experimentally will contribute to the adoption of measures to protect the health of the labor contingent. **Conclusion.** The leading role of timely adoption of a set of health-saving measures to prevent the development of occupational diseases in the labor contingent is determined, based on established risk meters and markers of accelerated aging using organisms of model animals.

Keywords: factors of the production environment; duration of exposure; model animals; risk meters and markers of aging; gender; biological age

Введение. Актуальность исследования предопределена национальными целями и стратегическими задачами развития страны на период до 2030 года, связанными с повышением качества и продолжительности активной жизни трудового контингента Российской Федерации (РФ), то есть системой материальных, социокультурных, экологических и демографических компонентов, в целях обеспечения национальной и государственной безопасности [1].

Современная демографическая ситуация, определяющая процесс старения населения страны, ведет к трансформации демографической структуры российского общества, изменению рынка труда и структуры занятости, потребительского спроса на товары и услуги, росту государственных затрат на социальное обеспечение населения. Возрастные коэффициенты смертности сформировали специфические особенности постарения российского населения, связанные не только с увеличением доли пожилых (по

календарному возрасту) людей вследствие снижения рождаемости, но и с биологическим постарением лиц, формально не относящихся к категории пожилых, то есть со снижением трудового потенциала не только за счет численности, но и за счет качественного состояния здоровья населения [2].

РФ входит в число пятидесяти государств планеты с худшими значениями по большинству индикаторов старения населения (доля населения старше 65 лет, средний возраст населения, ожидаемая продолжительность жизни, коэффициент демографической нагрузки и т.п.) и определяющих его факторов (в том числе, общий и суммарный коэффициенты рождаемости и т.п.) [3].

Проблемы ускоренного старения трудовых ресурсов в РФ характеризуются увеличением среднего возраста рабочего и количества пожилых рабочих, наличием категорий работ, где отмечается ускоренное профессиональное старение, прекращение труда до наступления

пенсионного возраста, связанное с несоответствием требований, предъявляемых к профессии, и снижением функциональных возможностей ускоренно стареющего организма. Отмечается устойчивая тенденция к снижению уровня воздействия факторов производственной среды и трудового процесса на работников, при этом основной вклад в формирование профессиональной патологии вносят физические воздействия (42,17%) и биологические факторы (26,28 %), доля которых существенно возросла в связи с пандемией COVID-19. Кроме того, современный уровень развития промышленности в РФ и введение в строй новых производственных объектов ведет к увеличению контингента лиц, подвергающихся воздействию факторов риска на производстве [4]. Это требует необходимости научного обоснования и разработки мероприятий направленных на профилактику заболеваний, связанных с профессией, в т.ч. у работающих на вредных производствах, а также внедрения дополнительных и совершенствование существующих профилактических мероприятий [5]. Старение является сложным и многофакторным процессом, который характеризуется накоплением дегенеративных процессов в ответ на множественные изменения на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. Эти изменения и повреждения подвергают опасности нормальное функционирование клеток и тканей организма. Как таковой процесс старения является абсолютным фактором риска (ФР) развития практически всех не связанных между собой видов патологии: сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), рака, диабета, неврологических болезней [6]. Длительный (хронический), в том числе и профессиональный стресс, запускает и ускоряет процессы преждевременного (ускоренного) старения органов и систем

человеческого организма, приводящие к изменению его биологического возраста. Процесс старения представляет собой затянувшийся хронический стресс, который приводит к полному истощению единой гуморальной защитной системы (ЕГЗС) [7]. Кроме того, на преждевременное старение и преждевременную смертность населения от приобретенных неинфекционных заболеваний (НИЗ) влияют профессиональные, социально-экономические, поведенческие, генетические факторы, и факторы окружающей среды, которые провоцируют риски развития и прогрессирования различных заболеваний [8]. Скребневой А.В. с соавторами, установлено, что жизнеспособность органов и систем организма человека более точно определяет биологический возраст (БВ), а не календарный возраст (КВ) [9]. К механизмам, раскрывающим процесс старения и развитие профессионально обусловленных заболеваний связанных с ускоренным старением, относят:

- повреждение структуры ДНК;
- изменения в генах и экспрессии некодирующих микроРНК (миРНК);
- генотоксичность; оксидативный стресс; укорочение теломер.

Для объяснения феномена старения предложено множество теорий, но ни одна из них не может полностью объяснить механизмы старения на фундаментальном уровне [6].

В настоящее время, выделяют 5 основных теорий старения [8]:

- 1). **Молекулярно-генетическая** – спонтанное накопление «вредных» мутаций или же под воздействием внешних факторов (стрессов, инфекций), если мутаций накапливается слишком много, это приводит к гибели клеток.
- 2). **Токсическое воздействие свободных радикалов** – избыток свободных радикалов приводит к старению, при этом скорость возрастной деградации зависит от количества

фермента – супероксиддисмутаза, нейтрализующего свободные радикалы.

3). **Самоуничтожение клеток (апоптоз)** – в онтогенезе процессы обновления клеток снижаются, в результате вновь образованных клеток в организме становится меньше, чем погибших, что приводит к развитию старения.

4). **Укорочение теломер** (длина теломер – один из способов определения биологического возраста) – при каждом делении клеток теломерные участки укорачиваются. В определенный момент длина теломер становится критической, клетки перестают делиться и, в некоторых случаях, отмирают приблизительно после 50 делений и проявляют признаки старения при приближении к этой границе (предел или лимит Леонарда Хейфлика, 1965 г).

5). **Нейроэндокринная теория** – в результате накопления токсических продуктов обмена в головном мозге, постепенно утрачиваются мозговые функции, так как снижаются уровни многих гормонов, регулирующих функции организма, что постепенно приводит к деградации и старению.

В понимании процесса старения за последние годы исследователями сделаны некоторые выводы, указывающие, что старение представляет собой мультифакторный процесс взаимодействия между биологическими и молекулярными механизмами [10].

В настоящее время, в мировой медицинской практике не существует единого набора биомаркеров, которые было бы легко выявить и применить для корректной оценки естественного или ускоренного старения. Однако, установление таких биомаркеров (параметров и характеристик организма отражающих функциональное состояние организма лучше, чем хронологический возраст) – важнейшая задача, решение которой обеспечило бы возможность анализа состояния здоровья трудового контингента в процессе старения и

прогнозирования нарушений на самых ранних этапах их развития [10], особенно в условиях действия факторов производственной вредности на эти процессы (характеристики).

Современными биомаркерами старения являются:

1). **Билирубин** – тетрапиррол (белок из 4 пиррольных колец, связанных метановыми мостиками), происходящий из гема – составной части гемоглобина. Билирубин изучается как потенциальный биомаркер резистентности к хроническим неинфекционным заболеваниям. По некоторым данным, небольшое увеличение концентрации билирубина в сыворотке крови ассоциируется с пониженным риском смерти от ССЗ. Следовательно, есть все основания полагать, что билирубин в будущем сможет рассматриваться как биомаркер низкого риска развития хронических заболеваний, а также как новый биомаркер здорового старения [11].

2). **Конечные продукты гликации** (КПГ, или Advanced Glycation End products – AGEs), которые тоже относятся к потенциальным биомаркерам здорового старения. Образование после неферментативного гликирования белковых модификаций – нормальное посттрансляционное изменение, возникающее в результате взаимодействия между глюкозой и белковыми аминокетонами. Данный механизм известен также как реакция Майера. Он приводит к образованию КПГ. Примечательно, что КПГ таких долгоживущих белков, как коллаген, накапливаются при нормальном процессе старения и могут участвовать в развитии ССЗ, заболеваний почек и нейро-дегенеративных изменений непосредственно либо опосредованно – через взаимодействия со своими специфическими AGE-рецепторами [12].

3). **Гликирование (неферментативное гликозилирование, реакция Майера)** – процесс взаимодействия

сахаров с белками или липопротеинами, который приводит к образованию КПП. Последние могут служить ФР развития множества дегенеративных заболеваний, таких как **атеросклероз, хроническая почечная недостаточность и болезнь Альцгеймера, также играют ключевую роль в процессе старения.** КПП влияют практически на все виды клеток организма и рассматриваются как один из ФР развития хронических заболеваний в процессе старения. Считается, что КПП играют также важную роль в возникновении осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы при сахарном диабете (СД) типа 2. Под влиянием определенных патологических условий, например под действием оксидативного стресса, у пациентов с гипергликемией и гиперлипидемией образование КПП может значительно превышать допустимый уровень. Известно также, что КПП выступают в роли провоспалительных медиаторов при гестационном СД [12, 13]. Образование и накопление КПП запускает механизмы развития заболеваний, связанных с процессом старения. КПП инициируют внутриклеточные повреждения путем образования поперечных (межмолекулярных) связей (cross linking) и вызывают апоптоз, образуют фотосенсибилизаторы в хрусталике глаза, что объясняет их участие в развитии катаракты. Сниженная функция мышечной ткани также ассоциирована с КПП. КПП вызывают повышенную проницаемость сосудов, повышение АД, ингибируют сосудистую дилатацию при взаимодействии с оксидом азота (NO), запускают процесс окисления липопротеидов низкой плотности в стенках артерий (главный фактор риска развития атеросклероза), связываются с эндотелиальными и мезангиальными клетками и вызывают секрецию цитокинов, усиливают влияние оксидативного стресса на клетку [14]. **Белки** подвергаются гликированию

под действием остатков лизина. В ядрах клеток располагаются гистоны, наиболее богатые лизином. Рецепторы КПП (RAGE) обнаруживаются во многих клетках (эндотелиальные клетки, клетки гладкой мускулатуры, иммунной системы) тканей легких, печени и почек. Связывание рецепторов с КПП приводит к развитию хронических воспалительных заболеваний, сопровождающих процесс старения (атеросклероз, артрит, инфаркт миокарда, нефропатия, ретинопатия, нейропатия и др.). Их патогенез обусловлен активацией ядерного фактора каппа-би (NF-κB) после присоединения КПП к специфическим рецепторам RAGE. NF-κB, в свою очередь, контролирует экспрессию нескольких генов, отвечающих за воспалительный процесс в организме [15].

4). Кислород очень важен для синтеза биологически активных веществ (например, гормонов и аденозинтрифосфата). Кислород активирует множество внутриклеточных ферментов, вовлекая их в разные стороны жизнедеятельности клетки. Несмотря на то, что кислород – необходимый элемент нормальной жизнедеятельности клетки, активные формы кислорода (АФК) иногда повреждают такие внутриклеточные молекулы, как ДНК и белки (оксидативный стресс). АФК появляются в результате метаболизма, под воздействием ионизирующей радиации и канцерогенов, которые непосредственно взаимодействуют со структурой ДНК и приводят к ее повреждению. В процессе метаболизма небольшая часть кислорода преобразуется в супероксид-анионы (высокотоксичные кислородные радикалы) из-за потери 1 электрона; затем супероксиданион последовательно превращается в кислород и пероксид водорода под действием супероксиддисмутазы (СОД). Пероксид водорода восстанавливается до воды с

помощью каталазы или глутатионпероксидазы. Однако если ферменты не справляются со своей функцией, ионы железа (II) окисляются пероксидом водорода с образованием крайне реактивного гидроксильного радикала, что вызывает разрушение многих органических веществ клетки (реакция Фентона). Гидроксильный радикал образуется также под воздействием на организм ультрафиолетового облучения или ионизирующей радиации. Гидроксильный радикал взаимодействует с липидами, образуя липидный пероксид. NO, известный также как эндотелиальный фактор релаксации (EDRF), образуется с помощью NO-синтетазы. NO и супероксид-анион могут взаимодействовать с образованием цитотоксичного пироксинитрита [16]. В последнее время оксидативный стресс активно изучался. Целями таких исследований являлись расширение знаний о механизмах защиты и взаимосвязи между оксидативным повреждением и процессом старения. Разработано множество методов обнаружения веществ, относящихся к АФК (супероксид-анионы, СОД, глутатионы, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза и др.) [1].

5). **Оксид азота (NO)** - играет роль нейротрансмиттера в отношении нейтрофилов и цитотоксического вещества в активированных макрофагах, взаимодействует с супероксид-анионом с образованием высокотоксичного пироксинитрита, известен также как эндотелиальный фактор релаксации и антиагрегатное вещество. Скорость реакции между NO и супероксиданионом больше таковой при взаимодействии последнего с СОД в 3 раза. Главная роль NO – активация гуанилатциклазы. NO является свободным радикалом, и проявляет высокую нестабильность, все его метаболиты обладают высокой активностью [18-20].

6). **Металлотионеины** – низкомолекулярные белки, богатые цистеином. Их функция значительно снижена у пожилых людей. Металлотионеины играют жизненно важную роль в цинковой регуляции транскрипции генов, ответственных за рост, пролиферацию, дифференцировку множества клеток, а также за развитие ключевых молекулярных путей, активизирующихся при нервной деятельности. Есть экспериментальные доказательства того, что защитные механизмы, иницированные металлотионеинами, активизируются по мере старения мозга и приводят к смягчению последствий оксидативного и нитративного стресса. Металлотионеины могут также выступать в роли акцепторов свободных радикалов и ингибировать формирование телец Чарноли (Charnoly body), сохраняя таким образом защитную функцию митохондрий и их положительное влияние на защиту нервных клеток в процессе старения головного мозга [21].

7). **Модель «эпигенетических часов»**, дополненная анализом мононуклеарных клеток, выделенных из периферической крови долгожителей и их потомков. представляет собой мультивариантный способ оценки хронологического возраста по уровню метилирования 353 динуклеотидных маркеров, известных также как CpG-островки. Протяженность и структура CpG-островков независимо коррелирует с хронологическим возрастом и смертностью.

8). **Молекулярный маркер p16NK4a**, известный своей способностью ингибировать циклинзависимую киназную активность. Длительная экспрессия p16NK4a способствует физиологическому старению клетки вследствие угнетения ее регенеративной способности и инициации необратимого ареста клеточного цикла. Однако p16NK4a играет важную роль в поддержании гомеостаза, контролируя супрессию опухолевого роста и

биологические процессы старения. Сейчас p16NK4a изучается в разных популяциях с использованием разных видов клеток; результаты исследований в дальнейшем позволят использовать его как один из биомаркеров естественного процесса старения [22].

9). **миРНК** – одноцепочечные некодирующие молекулы РНК, состоящие из 21–23 нуклеотидов, которые регулируют огромный спектр биологических процессов; они также рассматриваются в качестве маркеров старения.

миРНК вовлечены в ряд биологически значимых процессов (**контроль клеточного цикла, апоптоз, процесс дифференцировки стволовых клеток, гематопоз, гипоксия, развитие скелетной и сердечной мышц, нейрогенез, секреция инсулина, метаболизм холестерина, механизм старения, иммунный ответ и др.**). Помимо этого, высокая ткань специфическая экспрессия и регуляция экспрессии в строго определенные временные интервалы в ходе эмбриогенеза показывают, что миРНК играют ключевую роль в процессах дифференцировки и обеспечения жизнедеятельности различных тканей [22, 23].

К факторам риска (рискометрам позволяющим визуализировать потенциальный риск преждевременного старения трудового контингента с целью его предотвращения) **способствующим старению**, относят факторы производственной среды, генетические, эпигенетические, патологические и экзогенные факторы:

1). Факторы производственной среды, а также тяжесть и напряжённость трудового процесса:

- химические (ксилол, толуол, свинец, кадмий, кобальт, мышьяк, бензин, ацетон, угарный газ, пестициды, соединения кремния, кальция и

углерода, оксиды железа, магния, марганца и др.);

- физические: шум, ультразвук, инфразвук (частота звуковых колебаний, уровень шума), вибрация (частота колебаний и их скорость), неионизирующее излучение (частота электромагнитных излучений), световая среда; коэффициент естественной освещенности;

- биологические (вирусные гепатиты, туберкулез, covid-19 и др.);

2). Генетические и эпигенетические факторы:

- образование свободных радикалов (окислительный стресс);

- накопление повреждений в митохондриальной ДНК (мутации);

- укорочение длины теломер (ограничение числа клеточного деления);

- метилирование и гликозилирование ДНК (модификация молекулы ДНК);

- гиперинсулинемия (нарушение уровней гормона инсулина).

3). Патологические факторы:

- болезнь Альцгеймера (дегенеративное заболевание центральной нервной системы);

- болезнь Паркинсона (поражение экстрапирамидной системы);

- синдром Дауна (хромосомная патология);

- сахарный диабет (нарушение производства или взаимодействия инсулина);

- атеросклероз (поражение сосудов и артерий);

4) Экзогенные факторы:

- стресс (нарушения в работе нервной, эндокринной и иммунной систем);

- табакокурение (влияние табачного дыма и его составляющих: азота, оксид азота, углекислого и угарного газа, смол, никотина, нафтадена, фенола и крезола, N- нитрозаминов, аргона, метана, углеводородов, синильной кислоты, сероводорода, аммиака, пиренов, альдегидов, неорганических соединений (свинец, никель), ароматических аминов и др.);

- алкоголизм (хроническая алкогольная интоксикация, вплоть до сопора и коллапса);
- нарушение режимов труда и отдыха (бессонница, эмоциональное выгорание);
- нарушения в питании (нарушения липидного и белкового обмена, язвенная болезнь желудка и 12 перстной кишки);
- экологические факторы (влияние наночастиц частиц пыли и металлов, аэрозолей химически активных веществ).

Лабораторные животные позволяют смоделировать и изучить действие факторов производственной вредности на характеристики физиологических и клинических параметров органов и систем в сравнении с контрольной группой, и установить маркеры ускоренного старения и развития профессиональных заболеваний (при наличии одновременных патологии в двух и более органах).

Цель исследования – провести анализ научных исследований по установлению рискометров и маркеров старения, для принятия комплекса мер по профилактике ускоренного старения и развития профессиональных заболеваний у трудового контингента, в том числе с использованием моделей на лабораторных животных.

Материал и методы: аналитические, токсикологические, гигиенические и статистические методы исследования.

Токсиколого-гигиеническое исследование проведено в химической лабораторией НИИ гигиены Роспотребнадзора с декабря 2022 г. по май 2023 г. в соответствии с действующими Российскими правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных [24, 25], и международными правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей «Guidelines for the Care and Use of Animals» (Страсбург, 1986) [26-35].

Объектом исследования являлись результаты собственных оригинальных исследований по изучению влияния факторов производственной среды (вибрация, шум, 4-х компонентная смесь углеводородов) выполненные на организмах аутбредных разнополых лабораторных мышах JSR (n=130), приобретенных в сертифицированном питомнике ФГБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, в декабре 2022 г за 2-3 месяца до начала экспериментальной части работы (массой 35-50 г, дата рождения 20.09.2022 г). После прохождения 10-ти дневного карантина животные содержались в стандартных условиях вивария (температура помещения – 22-24°C, режим освещения 12L:12D) в клетках размером 50 × 30 × 20 см по 5 особей одного пола на клетку (с постепенным выбытием животных по 5 особей на 30, 60, 90 дни эксперимента, и размещением в клетке по 1-2 особи) на стандартном пищевом рационе *ad libitum*, а также опубликованный материал научных исследований по установлению рискометров и маркеров старения. Молекулярно-генетическое исследование выполнено в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний (НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН).

Животные опытных групп после моделирования воздействия факторов производственной вредности подвергались изучению характеристик физиологических и патологических реакций, потенцируемых от воздействия физических (шум, вибрация) и химических факторов (ксилол, толуол, бензин, ацетон) производственной среды в модельных условиях (с изучением физиологических характеристик, поведенческих реакций, биохимических и клинических показателей состава крови, мочи, гормонов), а затем подвергались эвтаназии (на 30, 60, 90 сутки), с последующим изучением морфологии органов и длины теломер.

Экспериментальные группы формировали методом случайных чисел, принимая за ведущий признак массу тела и эмоционально-поведенческие реакции животных. В фоновых доклинических исследованиях (до воздействия факторов производственной среды) использовались 5 особей с равным соотношением полов ($n=10$), из этих же групп для проведения анализа общего и биохимического состава крови, морфологического исследования внутренних органов лабораторных животных (миокарда, легких, печени, почек, селезенки), молекулярно-генетического исследования ДНК из поперечно-полосатой мышечной ткани. Для решения задач эксперимента было сформировано 4 группы (120 разнополых особей) следующего назначения: 3 опытные группы (группа №1 – воздействие вибрации 40-200 Гц в вибрационной камере по 0,5 часа, с 9.30 до 10 часов утра, 5 дней в неделю, и выбывающих из эксперимента на 30, 60 и 90 дни; группа №2 – воздействие шума 75-90 дБА в шумовой камере по 0,5 часа, с 9.30 до 10 часов утра, 5 дней в неделю, и выбывающих из эксперимента на 30, 60 и 90 дни; группа №3 – химическое воздействие 4-х компонентной смесью ароматических углеводов в концентрации 1,5 ПДК: ксилол - 225 мг/м³, бензин - 225 мг/м³, толуол - 450 мг/м³, ацетон - 1200 мг/м³) и 1 контрольная группа по 30 разнополых животных в каждой группе.

Для определения концентраций комплекса углеводов использовали портативный газоанализатор «ГАНК-4». Пробы воздуха отбирались из зоны дыхания животных с помощью пробоотборного зонда газоанализатора. Пределы основной относительной погрешности метода измерений составляют $\pm 20\%$.

Контрольных животных содержали в том же помещении лаборатории, но не подвергали экспериментальным манипуляциям. Перед началом эксперимента у всех животных измеряли

фоновые биохимические и гематологические показатели, массу тела, объём выпитой воды и съеденного корма, проводили тестирование в черно-белой камере. На следующий день после завершения каждого цикла (30, 60, 90 дней) воздействий животных взвешивали, проводили лабораторный анализ проб крови и мочи, так же при визуальном осмотре выявляли наличие ран и других повреждений. При лабораторном анализе проб оценивались следующие показатели:

- биохимический анализ крови: глюкоза, пигментные вещества (билирубин), липидограмма (общий холестерол, ЛПНП, триглицериды), белки (общий белок), азотистые соединения (мочевина, мочевиная кислота, креатинин);

- концентрации глюкокортикоидов - кортизол, половых гормонов – тестостерона, эстрадиола,

- общий анализ мочи: белок, мочевиная кислота, креатинин, мочевиная кислота, глюкоза, билирубин, кислотно-щелочной баланс.

Гистологические и морфологические исследования образцов тканей и органов лабораторных животных (миокарда, легких, печени, почек, селезенки) основных и контрольной групп, осуществляли после эвтаназии на 30, 60 и 90-дни эксперимента или самостоятельной гибели животных с обязательным определением весовых коэффициентов внутренних органов [36].

Экстракции ДНК из биологических образцов поперечнополосатых тканей модельных животных (на 30, 60 и 90-дни эксперимента) с последующим измерением относительной длины теломер с помощью количественной РТ-ПЦР в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний (НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН). Каждому образцу мышечной ткани мышцей ICR был присвоен лабораторный номер. Исследование на изменение относительной длины теломер (ОДТ) выполнено с помощью количественной

ПЦР (qPCR) в реальном времени на основе методики Lee RS с соавторами (2021) [37] с модификациями [38]. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции [39].

Статистический анализ данных производили с использованием стандартных методов вариационной статистики (пакет StatSoft, доступные версии 6-12) [40].

Для определения различий между показателями у мышей в ежемесячном разрезе использован критерий Краскела-Уоллиса. Данный критерий предназначен для проверки равенства средних в нескольких выборках в случаях, когда изучаемый признак не удовлетворяет критериям нормального распределения. Критерий Краскела-Уоллиса является много выборочным обобщением критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Критерий Краскела-Уоллиса (известен так же под названиями: критерий Крускала-Уоллиса, H-критерий Краскела-Уоллиса, Kruskal-Wallis one-way analysis of variance, Kruskal-Wallis test) является ранговым, поэтому он инвариантен по отношению к любому монотонному преобразованию шкалы измерения.

Статистический анализ полученных данных в ходе исследования проводился по следующим этапам: 1) расчет показателей описательной статистики; 2) оценка статистической значимости различий в рамках одной группы (контрольной, экспериментальных) проводилось с применением Т-критерия Вилкоксона (на 30, 60 и 90 день исследования). Различия показателей между группами проводилось с помощью U-критерий Манна-Уитни. Уровень значимости в исследовании принят при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате 90-дневного исследования организмов модельных животных подвергавшихся негативному воздействию производственных факторов выделен перечень маркеров воздействия направленных на

предотвращение негативных изменений здоровья и ускоренного старения модельных организмов:

- 1) Повышение уровня мочевой кислоты – маркер воспаления;
- 2) Уровень холестерина и глюкозы – оценка метаболического статуса;
- 3) Повышение уровня триглицеридов и снижение общего белка – маркер нарушений функции печени и почек;
- 4) Уровень ALT и AST – маркер поражения гепатоцитов;
- 5) Уровень креатинина – функции почек;
- 6) Повышение или снижение Индекса Ритиса – маркер нарушений сердечно-сосудистой системы и печени;
- 7) Укорочение ОДТ – маркер ускоренного старения органов и систем лабораторных животных;

8) Морфологические изменения в исследуемых органах животных опытных групп – маркеры развития заболеваний, связанных с профессией, по сравнению с группой контроля (не подвергавшихся воздействию неблагоприятных факторов производственной среды (комфортные условия содержания на протяжении 90-дневного эксперимента);

8.1) Миокард под влиянием факторов производственной среды: неравномерное кровенаполнение, в сосудах эритроцитарные тромбы, отек межлунечной ткани, дистрофия кардиомиоцитов, очаги склероза вплоть до некроза;

8.2) Печень под влиянием факторов производственной среды: неравномерное кровенаполнение, в сосудах эритроцитарные тромбы, синусоиды расширены, выраженная дистрофия гепатоцитов вплоть до некроза, жировой гепатоз печени;

8.3) Легкое под влиянием факторов производственной среды - неравномерное кровенаполнение, участки эмфиземы и ателектазов, кровоизлияний, утолщение и гиалиноз стенок сосудов, умеренная очаговая периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, очаговое утолщение межальвеолярных перегородок с

очаговой умеренной (или выраженной) инфильтрацией лимфоцитами, плоскоклеточная метаплазия эпителия единичных бронхиол. На отдельных участках с формированием лимфоидных фолликулов, частично стенки бронхов разрушены воспалительным инфильтратом, стенки артерий инфильтрированы лейкоцитами;

8.4) Почки под влиянием факторов производственной среды: неравномерное кровенаполнение, тромбы в просвете сосудов, очаговая лимфоцитарная инфильтрация стромы, выраженная дистрофия и некроз эпителия извитых канальцев, с полным его отсутствием на стенках канальцев, в других - на фоне выраженной дистрофии набухание и отек эпителия с перекрытием просветов, гломерулы полнокровны с отеком и расширением мочевого пространства, другие сдавлены окружающими их набухшими канальцами, эпителий выводных протоков уплощен, атрофичен. Клубочки различных размеров, часть из них с отеком и расширенным мочевым пространством и полнокровием капилляров, другие сдавлены извне отечными набухшими канальцами;

8.5) Селезёнка под влиянием факторов производственной среды: неравномерное кровенаполнение, участки кровоизлияний, в сосудах эритроцитарные тромбы, лимфоидные фолликулы с четкими центрами размножения различных размеров, расположены неравномерно, часть из них гиперплазированы, в красной пульпе обилие мегакариоцитов;

9) Выраженные физические изменения у животных опытных групп по сравнению с группой контроля – маркер старения, признаки поседение и/или выпадение волос, поседение волос, снижение массы тела, хрупкость костей скелета, снижение репродуктивной функции, слабость мускулатуры и снижение общей и познавательной подвижности;

10) Снижение уровней половых гормонов (тестостерона у самцов и эстрогена у

самок) и гормона стресса (кортизола, как у самок, так и у самцов) у животных опытных групп по сравнению с группой контроля – маркер старения;

11) Снижение когнитивных функции у животных опытных групп по сравнению с группой контроля – маркер старения;

12). Сокращение продолжительности жизни животных опытных групп по сравнению с группой контроля – маркер старения, увеличение смертности и сокращение средней продолжительности жизни.

В исследовании определена прямая зависимость между полом, возрастом и длительностью воздействия факторов производственной среды на модельные организмы, подвергнутые 90-дневному воздействию факторов производственной вредности, что позволило установить рискометры и маркеры преждевременного старения у животных опытных групп, в сравнении с группой контроля.

В мировой медицинской практики ожидается, что с помощью метаболомики, протеомики и геномики удастся собрать воедино все необходимые знания и выбрать новые, высокоинформативные биомаркеры старения. Новое направление ускоренного старения: определение чувствительности тканей к инсулину. Однако, чтобы окончательно доказать неэффективность классических методов для определения состояния здоровья в процессе старения, может потребоваться дополнительное время. В будущем предстоит выяснить, какие именно маркеры получат статус надежных предикторов биологически нормального старения и помогут выявить оптимальный метод оценки состояния здоровья, связанного со старением.

Полученные опытным путём результаты будут способствовать принятию мер по здоровьесбережению трудового контингента. Применение модельных животных в исследованиях по установлению преждевременного старения на фоне воздействия факторов

производственной вредности, позволяет более подробно изучать рискометры и маркеры старения и их влияние на здоровье и долголетие. Наиболее выраженные морфологические, биохимические и генетические изменения наблюдались у животных опытных групп на 90-день эксперимента, по сравнению с группой контроля.

Выводы. Определена ведущая роль своевременного принятия комплекса здоровьесберегающих мер по предупреждению развития профессиональных заболеваний у трудового контингента, на основе

установленных рискометров и маркеров ускоренного старения с использованием организмов модельных животных. Наличие патология двух и более органов у животных опытных групп резко повышает степень старения организма, по сравнению с животными в группе контроля.

Статья может представлять интерес для практических специалистов в области гигиены, геронтологии, здравоохранения, образования, а также научных работников и обучающихся вузов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костюк И.И., Василина А.А., Кискина Л.Г., Савченко О.А., Ступа С.С. Стратегия безопасности охраны здоровья населения - приоритет национальной безопасности Российской Федерации // Наука и военная безопасность. – 2023. - N 1(32). – С. 145-149.
2. Горбунова В.В. Старение населения и его влияние на социально-экономическое развитие современного российского общества // Научное обозрение. Экономические науки. – 2019. – N 1. – С. 11-15; URL: <https://science-economy.ru/ru/article/view?id=989> (дата обращения: 13.11.2023).
3. Горошко Н.В., Пацала С.В. Старение населения России: страна на фоне мира, регионы на фоне страны // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2020. - №3 (22) июль-сентябрь. [Электронный ресурс]. - URL: <https://e-journal.omgau.ru/issues/2020/3/00852.pdf>. - ISSN 2413-4066. (дата обращения 05.10.2023).
4. Бутова С.В., Несолоная О.В. Влияние факторов риска на продолжительность периода трудоспособности и производительность труда работников // Управление персоналом и интеллектуальными ресурсами в России. – 2020. - N 6(51). – С. 17-21. DOI: 10.12737/2305-7807-2021-17-21.
5. Климов В.В., Новикова И.И., Савченко О.А. Модель дополнительных профилактических мероприятий, направленных на предотвращение негативных изменений здоровья курсантов // Медицина труда и промышленная экология. – 2023. – N 63(3). – С. 155-162. DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2023-63-3-155-162>.
6. Хаммад, Е. Современные биомаркеры старения и когнитивных расстройств / Е. Хаммад // Врач. – 2017. – № 6. – С. 30-32. – EDN WGOGQV.
7. Кузник Б.И., Чалисова Н.И., Цыбиков Н.Н., Линькова, Н.С., Давыдов С.О. Стресс, старение и единая гуморальная защитная система

- организма. Эпигенетические механизмы регуляции. Успехи физиологических наук. 2020; 51(3): 51-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.31857/S030117982002006X> EDN: GXRAWT.
8. Савченко О.А., Новикова И.И., Чуенко Н.Ф., Александрова Д.А., Одарченко И.В. Рискометры старения. В кн.: Сборник материалов международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда». Минск: РУП «Науч.-практ. Центр гигиены», 2022: 52-6. EDN FKZSYW.
9. Скребнева А.В., Попов В.И., Буслова А.С. Методика определения биологического возраста в рамках фундаментальной характеристики старения. Здравоохранение Российской Федерации. 2019; 63(1): 22-28. <https://doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-1-22-28> EDN ZAZLED.
10. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Трофимов А.В. и др. Морфофункциональные основы пептидной регуляции старения // Успехи соврем. биол. – 2011; 131 (2): 115–21.
11. McCarty M. Serum bilirubin may serve as a marker for increased heme oxygenase activity and inducibility in tissues – a rationale for the versatile health protection associated with elevated plasma bilirubin // Med. Hypotheses. – 2013; 81 (4): 607–10.
12. Xue J., Ray R., Singer D. et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) specifically recognizes methylglyoxal-derived AGEs // Biochemistry. – 2014; 53 (20): 3327–35.
13. Ashraf J., Ahmad S., Choi I. Recent advances in detection of AGEs: Immunochemical, bioanalytical and biochemical approaches // IUBMB Life. – 2015; 67 (12): 897–913.
14. Ashraf J., Ahmad S., Choi I. Recent advances in detection of AGEs: Immunochemical, bioanalytical and biochemical approaches // IUBMB Life. – 2015; 67 (12): 897–913.

15. Jahan H., Choudhary M. Glycation, carbonyl stress and AGEs inhibitors: a patent review // *Exp. Opin. Ther. Pat.* – 2015; 25 (11): 1267–84.
16. Martin D., Grocott M. Oxygen therapy in critical illness: precise control of arterial oxygenation and permissive hypoxemia // *Crit. Care Med.* – 2013; 41 (2): 423–32.
17. Frijhoff J., Winyard P., Zarkovic N. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2015; 23 (14): 1144–70.
18. Савченко, О. А. Механизмы электромеханического и фармакомеханического сопряжения в гладкомышечных клетках воротной вены морских свинок: специальность 03.00.13 : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Савченко Олег Андреевич. – Омск, 2000. – 199 с. – EDN QDCNPF.
19. Савченко, О. А. Механизмы электромеханического и фармакомеханического сопряжения в гладкомышечных клетках воротной вены морских свинок: специальность 03.00.13: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Савченко Олег Андреевич. – Омск, 2000. – 20 с. – EDN ZKOGSV
20. Avdagić N., Začiragić A., Babić N. Nitric oxide as a potential biomarker in inflammatory bowel disease // *Bosn. J. Basic Med. Sci.* – 2013; 13 (1): 5–9.
21. Thirumoorthy N., Shyam Sunder A., Manisenthil Kumar K. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology // *World J. Surg. Oncol.* – 2011; 9: 54–62.
22. Pashkovskiy P., Ryazansky S. Biogenesis, evolution, and functions of plant microRNAs // *Genetics.* – 2013; 13 (5): 1156–9. 15.
23. Vuermans H., Ariyurek Y., Van Ommen G. New methods for next generation sequencing based microRNA expression profiling // *BMC Genomics.* – 2010; 11: 716.
24. ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Введен 2016-07-01. М.: Стандартиформ, 2014; 10. Режим доступа: https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1241/zamenuyuschiy_GOST_33216-2014.pdf.
25. Приказ Министерства здравоохранения СССР №163 от 10 марта 1966 г. «О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов». Сб. инструктивно-методических материалов, регламентирующих работу лабораторий санитарно-эпидемиологических станций (Орг. вопросы). Ч. II. Спецсредства и хозрасчет. Нормы времени работы и нормы расхода. Техника безопасности. М., 1980.
26. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18 марта 1986 года. URL: <https://docs.cntd.ru/document/901909691>.
27. Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFOW joint working group on refinement. *Laboratory Animals* (1993), 27: 1-22.
28. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1, *Laboratory Animals* (1996), 30: 293-316.
29. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2, *Laboratory Animals* (1997), 31: 1-32.
30. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFOW Joint Working Group on Refinement. *Lab Anim.* (2001), 35(1): 1-41.
31. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook, 2nd edition, ARENA, 2002.
32. Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US); 2008.
33. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US); 2009.
34. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/EC от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей. URL: <https://base.garant.ru/70350564/>
35. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health / National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. – 8th. – Washington (DC): National Academies Press (US), 2011. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
36. Рощина Е.А. Референсные интервалы по массовым коэффициентам органов мышей и их абсолютным значениям // *Лабораторные животные для научных исследований.* – 2022. - № 3. – С. 24–29. - DOI: <https://doi.org/10.57034/2618723X-2022-03-03>.
37. Lee R.S., Zandi P.P., Santos A., Aulinas A., et al. Cross-species Association Between Telomere Length and Glucocorticoid Exposure // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2021. – Vol. 106. -№ 12. – P. e5124-e5135. doi: 10.1210/clinem/dgab519. PMID: 34265046; PMCID: PMC8787853.
38. Maximov VN, Maljutina SK, Orlov PS, Ivanoschuk DE, Voropaeva EN, Bobak M, Voevoda MI. [Length telomere leukocytes as ageing markers and risk factors for age-related diseases in humans]. *Adv Gerontol.* 2016;29(5):702-708. [In Russian]. PMID: 28556637.
39. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // В кн.: Анализ генома / Под ред. К. Дейвиса. М: Мир, 1990. С. 58-94.
40. Гудинова Ж.В., Жернакова Г.Н., Толькова Е.И. Дружелюбная статистика // *Статистический анализ медицинских баз данных: пошаговые инструкции.* – 2014. – № 1. – С. 112.