

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 613.64: 616.717 – 057

СИСТЕМА МЕДИАТОРОВ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ КАК МАРКЕРОВ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ШКОЛЬНИКОВ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО ПОСТУПЛЕНИЯ СТРОНЦИЯ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

**О.В. Долгих^{1,2}, А.В. Кривцов¹, К.Г. Старкова¹, В.А. Лучникова¹,
О.А. Бубнова^{1,2}, Д.Г. Дианова¹, Н.В. Безрученко^{1,2}, Н.А. Вдовина¹**

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

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

*Проведена оценка иммунологических маркеров у школьников, экспонированных стронцием. Показано, что в условиях повышенного поступления стронция с питьевой водой индикация спонтанного и индуцированного уровня медиаторов *in vitro* позволяет выявить ранние функциональные нарушения иммунной системы. Установлено, что маркеры специфической гиперчувствительности и медиаторы межклеточной иммунной регуляции: IgG специфические к стронцию, цитокины IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, α -TNF, GM-CSF, спонтанные и специфически стимулированные, RANKL, OPG – могут быть предложены для проведения идентификации риска нарушения здоровья в качестве ранних маркеров изменений иммунорегуляции у школьников, проживающих в зонах стронциевых геохимических провинций.*

Ключевые слова: стронций, цитокины, маркеры.

Многочисленные исследования убедительно свидетельствуют о взаимосвязи между гигиеническими факторами и состоянием иммунного статуса населения [2, 3, 16]. Изменение состояния иммунной системы является одним из показателей адаптации организма практически здоровых людей к условиям загрязнения

окружающей среды химическими соединениями, в том числе металлами. Стабильный стронций входит в перечень химических веществ, обладающих иммунотропной и мутагенной активностью (токсикологические профайлы Агентства по регистрации токсичных веществ и заболеваний США (ATSDR), 2004, 2008).

© Долгих О.В., Кривцов А.В., Старкова К.Г., Лучникова В.А., Бубнова О.А., Дианова Д.Г., Безрученко Н.В., Вдовина Н.А., 2015

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики, профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Кривцов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: kriptov@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Старкова Ксения Геннадьевна – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммунологии и аллергологии (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Бубнова Ольга Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Дианова Дина Гумеровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных методов диагностики (e-mail: dianovadina@rambler.ru; тел. (342) 236-39-30).

Лучникова Виктория Александровна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Вдовина Надежда Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Безрученко Надежда Владимировна – иммунолог отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Ионы стронция близки к ионам кальция и могут замещать последние в организме, что и является основным типом действия соединений этого элемента [1, 11, 12]. Стронций биологически конкурирует с кальцием. Показано, что ионы стронция, имея иной диаметр, нежели ионы кальция, способны блокировать ионные каналы для последнего, что может определить ингибирующее влияние стронция на иммунную реакцию, отмеченное для естественных киллеров, а также воздействие на другие клетки организма, прежде всего костную систему [7, 9]. Распознавание Т- и В-лимфоцитами небольших молекул, каковыми являются металлы, объясняют гаптенной гипотезой, согласно которой гаптены становятся полными антигенами, ковалентно связываясь с большими протеинами или пептидами. Реакции адаптации проявляются на уровне различных и в первую очередь регуляторных систем, которые в последнее время рассматриваются в качестве функционально единых систем, определяющих поддержание гомеостаза [2, 3]. Одними из основных звеньев иммунитета, осуществляющих иммунный ответ на средовые, в том числе техногенные химические факторы, являются регуляторные и эффекторные системы адаптивной ветви иммунитета. Поэтому для углубленного изучения состояния иммунного ответа на токсиканты в качестве индикаторных диагностических критериев сенсбилизации используют показатели специфического иммунитета – продуцируемые Т- и В-лимфоцитами цитокины и специфические антитела, а также различные гуморальные медиаторы [10, 13, 15]. В ходе развития иммунных реакций происходит высвобождение медиаторов – цитокинов, эндогенных регуляторов и эффекторов иммунной системы [6, 14]. Цитокины являются сигнальными секретируемыми протеинами, которые участвуют в межклеточном и межсистемном взаимодействии, клеточном росте, дифференциации и активации; регулируют цитотоксические (противовирусные и противоопухолевые), гуморальные, клеточно-опосредованные (Th1 или Th17) или аллергические (Th2) иммунные реакции, результат которых определяется балансом продуцируемых цитокинов с про- или противовоспалительными свойствами, также играют роль в процессах регуляции костного метаболизма [4, 5, 8]. Индикация спонтанного и индуцированного уровня медиаторов *in vitro* позволяет выявить функциональные адаптивные резервы иммунной системы в ус-

ловиях экспозиции средовых антигенов, в качестве которых выступают металлы [2].

Цель работы – определить маркерные показатели иммунологических нарушений у школьников в условиях повышенного поступления стронция с питьевой водой.

Материалы и методы. При углубленном изучении состояния здоровья школьников Пермского края выполнено генетическое и иммунологическое диагностическое обследование 113 детей в возрасте от 7 до 9 лет, постоянно проживающих в эндемичной зоне, характеризующейся повышенным содержанием стронция в подземных водах (1,2 ПДК). Группу контроля составили 57 детей, проживающих на территории, характеризующейся нормативным уровнем качества воды по содержанию стронция. Группа наблюдения и контрольная группа были сопоставимы по этническому, гендерному и возрастному составу, соматической заболеваемости и социальному статусу. Выборка обследуемых была достаточна для достоверного определения межгрупповых отличий.

Исследование биосред на содержание металлов (мг/дм³) выполнено методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Содержание IgG специфических к стронцию определяли методом аллоргосорбентного тестирования с ферментной меткой. На нитроцеллюлозной подложке производили конъюгацию тестируемого химического вещества с белком, в качестве контроля использовали 0,5 % раствор хлорида натрия. В дальнейшем производили инкубацию исследуемой сыворотки с антигенными комплексами, сорбированными на нитроцеллюлозной подложке, и связывание Fab-фрагментов специфических антител человека. На втором этапе иммуноферментного анализа для образования классического «сэндвича» в опытный и контрольный образец вносили конъюгированные с пероксидазой хрена моноклональные антитела к Fc-фрагменту IgG человека с последующим конкурентным связыванием специфических антител к химическому веществу со специфическими участками вариабельных доменов Fab-фрагментов моноклональных антител. После промывки лунок фосфатным буфером и проявления окраски посредством добавления хромогенного субстрата останавливали реакцию стоп-реагентом и производили удаление отработанных подложек, осуществляли фотометрическое измерение и регистрацию оптической плотности в опытном и контрольном образцах. Сопоставляли их с оп-

тической плотностью стандартных образцов с известной концентрацией иммуноглобулина G к белку куриного яйца. Для получения таких стандартных образцов параллельно изготавливали калибровочные диски, на которые конъюгировались образцы с известным содержанием человеческих антител IgG к белку куриного яйца. Использовали стандартные образцы IgG, конъюгат, хромогенный субстрат и стоп-реагент из набора реагентов для определения общего IgG*, специфического IgG**.

Анализ маркеров клеточной регуляции IL-6, IL-10, IL-17, системы α -TNF, GM-CSF, VEGF в сыворотке, а также оценка секреции данных цитокинов путем активации мононуклеарных клеток цельной крови *ex vivo* стронцием исследовали методом ИФА с использованием тест-систем для определения цитокинов и «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ» фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на анализаторе «Elx808IU». Действие комплекса митогенов и стронция (стронций 0,01 мг/мл) на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками крови оценивали с помощью индекса влияния, который рассчитывали как отношение продукции цитокина клетками крови, стимулированных этими активаторами, к уровню спонтанной продукции

Маркеры костного метаболизма RANKL и OPG определяли методом ИФА с использованием тест-систем «ampli-sRANKL» и «Osteoprogerin» фирмы «Biomedica» (Австрия).

Содержание IL-12 вычисляли с помощью иммуноферментных наборов «hIL-12+p40» (BioSource Europe S.A., Бельгия), которые позволяют выполнять определение общего уровня IL-12 путем измерения биоактивного гетеродимера p35-p40 и антагониста гомодимера p40-p40; стандарты в наборе прокалиброваны по Международному стандарту 95/544 для человеческого IL-12 (NIBSC, Herfordshire, UK, EN6 3QG).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica (V.6.0). Результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики с расчетом средней арифметической и её стандартной ошибки. Достовер-

ность различий оценивали с помощью критерия *t* Стьюдента. Различия считали достоверными при значении $p \leq 0,05$. Проводили корреляционный анализ (система парных линейных математических моделей) зависимостей «гаптен – специфический иммунный ответ». При отсутствии нормального распределения выборочных данных, при малом числе наблюдений использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Изучение статистических взаимосвязей проводили путем расчета коэффициентов корреляции Спирмена (*rs*). Характер статистического распределения по выборкам устанавливали по критерию согласия – χ^2 . Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные признаки представлены как $M \pm m$ (среднее арифметическое \pm ошибка среднего). Различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$. Проверка статистических гипотез выполнялась при критическом уровне $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ качества воды хозяйственно-питьевого водоснабжения детских учреждений на исследуемой территории (г. Кунгур) свидетельствовал о превышении концентрации стронция относительно территории сравнения (п. Сива) в 7 раз ($7,49 \pm 0,38$ и $0,91 \pm 0,15$ мг/л соответственно).

В крови детей, проживающих в зоне с повышенным содержанием стронция, установлена кратность превышения данного элемента относительно группы сравнения в 3,9 раза ($0,125 \pm 0,021$ и $0,031 \pm 0,003$ мкг/см³ соответственно; референтный интервал $0,01 - 0,077$ мкг/см³).

Проведенные клинико-лабораторные исследования выявили наличие патологических изменений со стороны иммунной системы школьников на исследуемой территории: установлен повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень специфической сенсибилизации к стронцию по критерию IgG (содержание специфического IgG к стронцию – $0,142 \pm 0,03$ усл. ед.* при норме $< 0,10$), в группе контроля – $0,107 \pm 0,014$.

По результатам углубленного изучения воздействия стронция на цитокинпродуцирующую активность иммунокомпетентных клеток крови детей выявлена разница в динамике стимулированной стронцием продукции медиаторов в условиях предварительной сенсибилизации стронцием и при её отсутствии (табл. 1).

* Инструкция по применению набора реагентов IgG общий – ИФА-БЕСТ А 8662, ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия.

** Инструкция по применению. Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения аллерген-специфических IgG антител в сыворотке крови, «Иммунотекс», г. Ставрополь, Россия.

* Разница достоверна по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

Т а б л и ц а 1

Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов клетками периферической крови школьников, значение медианы (25–75-й перцентиль), пг/см³ (эксперимент)

Параметр	Группа	Цитокины			
		IL-6	IL-10	IL-12	IL-17
Спонтанная продукция	Контроль	637,5 (262,5–957,5)	5,765 (4,075–12,42)	48,84 (43,12–67,95)	2,26 (1,8575–2,62)
	Наблюдение	415 (144–997,5)	4,45 (3,67–7,08)	18,53 (7,89–29,01) *	2,41 (1,33–2,8)
Продукция, индуцированная стронцием	Контроль	101500 (81000–166750)	5,61 (4,1625–8,91)	37,41 (25,0–81,69)	2,47 (2,20–2,55)
	Наблюдение	52500 (39100–86325) *	5 (4,05–11,22)	24,38 (13–45,36)	1,45 (1,18–1,84) *
<i>Индекс влияния</i>					
Стронций	Контроль	143,38 (93,58–530,92)	0,90 (0,54–1,51)	1,03 (0,61–1,42)	1,04 (0,89–1,39)
	Наблюдение	201,96 (55,04–423,89)	1,09 (0,79–2,00)	1,29 (0,85–1,77)	0,79 (0,37–1,36) *

П р и м е ч а н и е: * – разница достоверна по сравнению с группой контроля при значении $p < 0,05$.

Анализ индуцируемой продукции провоспалительного IL-6, цитокина, участвующего в процессах костного ремоделирования, показал, что в обследуемой группе индуцированная стронцием продукция IL-6 достоверно ниже уровня контрольной группы. Под влиянием стронция секреция цитокина возрастает в обеих группах. При этом в обследуемой группе школьников кратность значения стимуляции (201) выше, чем у школьников контрольной группы (143). Индекс влияния стронция на синтез IL-6 как раннего медиатора, показывающего выраженную реакцию в условиях активации, превышает данный показатель остальных изучаемых цитокинов.

Не установлено влияние стронция на синтез противовоспалительного IL-10, спонтанные значения не имеют достоверного различия, но в обследуемой группе уровень данного цитокина выше, чем в контрольной, в 1,3 раза.

Спонтанный уровень провоспалительного IL-12, участвующего в дифференцировке Th0 в сторону Th1 и осуществляющего клеточную защиту, в обследуемой группе ниже, чем в контрольной ($p < 0,05$). Индуцированная стронцием продукция в обеих группах не имеет достоверной разницы по сравнению со спонтанной, но более значимые изменения в выработке цитокина обнаруживаются в группе наблюдения: ИВ стронция – 1,29, в контрольной – 1,03.

Не выявляется резервный потенциал IL-17 в группе детей, имеющих предварительную сенсibilизацию стронцием, наблюдается угнетение экспрессии IL-17 после инкубации с металлом ($p < 0,05$).

Спонтанная продукция α -TNF группы обследования статистически значимо ниже таковой в группе контроля. Уровень стронцийиндуцированной продукции данного цитокина в обследуемой группе также ниже контрольной ($p < 0,05$) (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов клетками периферической крови школьников, значение медианы (25–75-й перцентиль), пг/см³ (эксперимент)

Параметр	Группа	Цитокины		
		α -TNF	GM-CSF	VEGF
Спонтанная продукция	Контроль	38,69 (13,19–59,66)	1,25 (0,85–2,38)	124,71 (63,82–199,56)
	Наблюдение	3,62 (2,84–16,08) *	1,88 (0,57–4,50)	84,11 (28,16–170,72)
Продукция, индуцированная стронцием	Контроль	60,41 (32,12–105,87)	23,75 (4,66–44,56)	145,21 (32,00–216,29)
	Наблюдение	7,69 (3,59–20,53) *	3,38 (1,19–13,08) *	79,73 (21,21–115,39)
<i>Индекс влияния</i>				
Стронций	Контроль	1,38 (0,72–4,51)	26,26 (4,21–52,43) *	0,84 (0,57–1,13)
	Наблюдение	1,26 (0,86–3,63)	2,26 (0,99–7,77)	0,62 (0,44–1,66)

П р и м е ч а н и е: * – разница достоверна по сравнению с группой контроля при значении $p < 0,05$.

Концентрация GM-CSF, секретируемого спонтанно, в обеих группах не имеет достоверных различий. В условиях активации стронцием происходит стимуляция экспрессии фактора роста, однако у обследуемых детей она достоверно более низкая.

Значение медианы спонтанной концентрации эндотелиального ростового фактора VEGF у детей группы наблюдения ниже, чем в контрольной. Индуцированный синтез фактора более значим в группе контроля.

Проведены исследования влияния стронция на остеометаболизм путем определения содержания медиаторов ремоделирования костной ткани RANKL, остеопротегерина, IL-17, α -TNF, определен дисбаланс у детей, экспонированных стронцием, между маркерами, характеризующийся соотношением RANKL/остеопротегерин, что ассоциируется со сниженной способностью поддерживать формирование и активацию остеокластов (табл. 3).

Отношение RANKL/остеопротегерин у группы наблюдения (0,16 (0,13–0,32)) было выше аналогичного значения у детей группы контроля (0,10 (0,02–0,18)). Также установлено изменение содержания IL-17 в кровотоке, цитокина, одной из функций которого, как маркера иммунной регуляции остеометаболизма, является индукция экспрессии RANKL. Концентрация IL-17 у детей группы наблюдения в 1,29 раза выше, чем в группе контроля. В кровотоке обследованных групп наблюдения отмечается достоверно повышенная концентрация α -TNF по сравнению с контрольной группой.

Отмечается отрицательная корреляция ($r=-0,72$; $p<0,05$) между содержанием стронция и уровнем остеопротегерина. Корреляционные связи между содержанием стронция и уровнем

Таблица 3

Сравнительная оценка содержания маркеров костного ремоделирования в крови школьников, значение медианы (25–75-й перцентиль), пг/см³

Показатель	Группа	
	наблюдения	контрольная
Ampli-sRANKL, пг/см ³	8,48 (3,52–11,71)	5,53 (1,29–13,15)
Остеопротегерин, пг/см ³	20,80 (19,05–48,55)	85,05 (71,13–105,28) *
Ampli-sRANKL/ Остеопротегерин	0,16 (0,13–0,32)	0,10 (0,02–0,18)
Интерлейкин-17, пг/см ³	1,09±0,14	0,85±0,12
α -TNF, пг/см ³	1,57 (1,45–2,245)	0,49 (0,39–0,76) *

Примечание: * – разница достоверна по сравнению с группой наблюдения при значении $p<0,05$.

RANKL/остеопротегерин ($r=0,53$; $p<0,05$) являются положительными.

Отношение RANKL/остеопротегерин в группе наблюдения (у школьников – 0,11) было достоверно выше аналогичного в контрольной группе (0,06).

Выводы. В результате проведенных исследований установлено, что маркеры специфической гиперчувствительности и медиаторы межклеточной иммунной регуляции: IgG специфические к стронцию, цитокины IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, α -TNF, GM-CSF, спонтанные и специфически стимулированные, IL-17, α -TNF в кровотоке, RANKL, OPG могут быть предложены для проведения идентификации риска нарушения здоровья в качестве ранних маркеров нарушений иммунорегуляции у школьников, проживающих в зонах стронциевых геохимических провинций.

Список литературы

1. Венгеровский А.И., Хлусов И.А., Нечаев К.А. Молекулярные механизмы действия бисфосфонатов и стронция ранелата // Экспер. и клин. фармак. – 2014. – Т. 77 (9). – С. 43–46.
2. Долгих О.В., Предеина Р.А., Дианова Д.Г. Экспериментальная оценка влияния фенолов на иммунорегуляцию *ex vivo* // Анализ риска здоровью. – 2014. – № 1. – С. 73–81.
3. Особенности лимфоцитарно-клеточного звена у детей, проживающих на техногенно-нагруженных территориях / О.В. Долгих, Н. В. Зайцева, Д.Г. Дианова, Т.С. Лыхина, А.В. Кривцов, А.М. Гугович // Биол. мембраны. – 2012. – Т. 29 (5). – С. 349–353.
4. Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity / K Krzystyniak [et. al.] // Environ Health Perspect. – 1995. – Vol. 103, suppl 9. – P. 17–22.
5. Caverzasio J., Thouverey C. Activation of FGF receptors is a new mechanism by which strontium ranelate induces osteoblastic cell growth // Cell. Physiol. Biochem. – 2011. – Vol. 27 (3–4). – С. 243–250.
6. Cytokine release and cytotoxicity in human keratinocytes and fibroblasts induced by phenols and sodium dodecyl sulfate / C.S. Newby [et. al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2000. – Vol. 115. – P. 292–298.
7. Fromigué O., Haÿ E., Barbara A. Calcium sensing receptor-dependent and receptor-independent activation of osteoblast replication and survival by strontium ranelate // JCM. – 2009. – Vol. 13 (8B). – P. 2189–2199.

8. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling / F. Yang, D. Yang, J. Tu, Q. Zheng, L. Cai, L. Wang // *Stem cells*. – 2011. – doi: 10.1002/stem.646.
9. Strontium ranelate decreases RANKL-induced osteoclastic differentiation in vitro: involvement of the calcium sensing receptor / A. Caudrillier, A.-S. Hurtel-Lemaire, A. Wattel, F. Cournarie, C. Godin, L. Petit, J.-P. Petit, E. Terwilliger, S. Kamel, E.M. Brown, R. Mentaverri, M. Brazier // *Mol. pharmacol.* – 2010. – Vol. 4. – P. 569–576.
10. Switching Akt: From survival signaling to deadly response / M. Los, S. Maddika, B. Erb, K. Schulze-Osthoff // *BioEssays*. – 2009. – Vol. 31 (5). – P. 492–495.
11. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways / A.S. Hurtel-Lemaire, R. Mentaverri, A. Caudrillier, F. Cournarie, A. Wattel, S. Kamel, E.F. Terwilliger, E.M. Brown, M. Brazier // *JBC*. – 2009. – Vol. 284. – P. 575–584.
12. The inhibitory effect of strontium-doped calcium polyphosphate particles on cytokines from macrophages and osteoblasts leading to aseptic loosening in vitro / C. Huang, L. Li, X. Yu, Z. Gu, X. Zhang // *Biomed. mater.* – 2014. – Vol. 9 (2). doi: 10.1088/1748-6041/9/2/025010.
13. Tucci P. Caloric restriction: is mammalian life extension linked to p53? // *AGING*. – 2012. – № 8. – P. 525–534.
14. Wnt signaling through inhibition of β -catenin degradation in an intact axin1 complex / V.S. Li, S.S. Ng, P.J. Boersema, T.Y. Low, W.R. Karthaus, J.P. Gerlach, S. Mohammed, A.J. Heck, M.M. Maurice, T. Mahmoudi, H. Clevers // *Cel.* – 2012. – Vol. 149. – P. 1245–1256.
15. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Sidorenko S.P.. The multilevel regulation of CD95 signaling outcome // *Exp. oncol.* – 2012. – Vol. 34 (3). – P. 200–2011.
16. Zaytseva N.V., Dianova D.G., Dolgikh O.V. Effects of cellular immunity in conditions of surplus supply of strontium with consumed water // *EJNH*. – 2014. – № 1. – С. 7–8.

References

1. Vengerovskiy A.I., Hlusov I.A., Nechaev K.A. Molekuljarnye mehanizmy dejstvija bisfosfonatov i stroncija ranelata [Molecular mechanisms of bisphosphonate and strontium ranelate action]. *Jekscjep. i klin. fapmak*, 2014, no. 77 (9), pp. 43–46.
2. Dolgikh O.V., Predeina R.A., Dianova D.G. Jeksperimental'naja ocenka vlijanija fenolov na immunoreguljaciju ex vivo [Experimental evaluation of phenol effect on ex vivo immunoregulation]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2014, no. 1, pp. 73–81.
3. Dolgikh O.V., Zaitseva N. V., Dianova D.G., Lyhina T.S., Krivtsov A.V., Gugovich A.M. Osobennosti limfocitarno-kletochnogo zvena u detej, prozhivajushhiih na tehnogenno-nagruzhenyih territorijah [Peculiarities of lymphocyte cell level in children living in technologically laden areas]. *Biol. membrany*, 2012, no. 29 (5), pp. 349–353.
4. Krzystyniak K. [et. al.] Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity. *Environ Health Perspect.*, 1995, vol. 103, suppl 9, pp. 17–22.
5. Caverzasio J., Thouverey C. Activation of FGF receptors is a new mechanism by which strontium ranelate induces osteoblastic cell growth. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2011, no. 27 (3–4), pp. 243–250.
6. Newby C.S. [et. al.] Cytokine release and cytotoxicity in human keratinocytes and fibroblasts induced by phenols and sodium dodecyl sulfate. *Journal of Investigative Dermatology*, 2000, vol. 115, pp. 292–298.
7. Fromigué O., Haÿ E., Barbara A. Calcium sensing receptor-dependent and receptor-independent activation of osteoblast replication and survival by strontium ranelate. *JCMM*, 2009, no. 13 (8B), pp. 2189–2199.
8. Yang F., Yang D., Tu J., Zheng Q., Cai L., Wang L. 2011. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling. *Stem cells*. 2011, doi: 10.1002/stem.646.
9. Caudrillier A., Hurtel-Lemaire A.-S., Wattel A., Cournarie F., Godin C., Petit L., Petit J.-P., Terwilliger E., Kamel S., Brown E. M., Mentaverri R., Brazier M. Strontium ranelate decreases RANKL-induced osteoclastic differentiation in vitro: involvement of the calcium sensing receptor. *Mol. pharmacol*, 2010, no. 4, pp. 569–576.
10. Los M., Maddika S., Erb B., SchulzeOsthoff K. Switching Akt: From survival signaling to deadly response. *BioEssays*, 2009, no. 31 (5), pp. 492–495.
11. Hurtel-Lemaire A.S., Mentaverri R., Caudrillier A., Cournarie F., Wattel A., Kamel S., Terwilliger E.F., Brown E.M., Brazier M. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. *JBC*, 2009, no. 284, pp. 575–584.
12. Huang C., Li L., Yu X., Gu Z., Zhang X. The inhibitory effect of strontium-doped calcium polyphosphate particles on cytokines from macrophages and osteoblasts leading to aseptic loosening in vitro. *Biomed. mater*, 2014, no. 9 (2). doi: 10.1088/1748-6041/9/2/025010.
13. Tucci P. Caloric restriction: is mammalian life extension linked to p53? *AGING*, 2012, no. 8, pp. 525–534.
14. Li V.S., Ng S.S., Boersema P.J., Low T.Y., Karthaus W.R., Gerlach J.P., Mohammed S., Heck A.J., Maurice M.M., Mahmoudi T., Clevers H. Wnt signaling through inhibition of β -catenin degradation in an intact axin1 complex. *Cel.*, 2012, vol. 149, pp. 1245–1256.

15. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Sidorenko S.P. The multilevel regulation of CD95 signaling outcome. *Exp. oncol.*, 2012, no. 34 (3), pp. 200–2011.

16. Zaytseva N.V., Dianova D.G., Dolgikh O.V. 2014. Effects of cellular immunity in conditions of surplus supply of strontium with consumed water. *EJNH*, no. 1, pp. 7–8.

NEUROTRANSMITTER SYSTEM OF IMMUNE REGULATION AS A MARKER OF IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN PUPILS IN THE CONDITIONS OF INCREASED ENTRY OF STRONTIUM WITH DRINKING WATER

**O.V. Dolgikh^{1,2}, A.V. Krivtsov¹, K.G. Starkova¹, V.A. Luchnikova¹, O.A. Bubnova^{1,2},
D.G. Dianova¹, N.V. Bezruchenko^{1,2}, N.A. Vdovina¹**

¹ FBFSI “Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies”, Russian Federation, Perm, 82 Monastyrskaya St., 614045

² FBSEI HPE “Perm State National Research University”, Russian Federation, Perm, 15 Bukireva St., 614990

The evaluation of immunological markers in schoolchildren exposed to strontium is performed. It is shown that under the conditions of increased administration of strontium with drinking water the indication of spontaneous and induced levels of neurotransmitters in vitro allows to detect early functional disorders of the immune system. It was found that the following markers of specific hypersensitivity and mediators of intercellular immune regulation (IgG specific to strontium, cytokines IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, α -TNF, GM-CSF, spontaneous and specifically stimulated, RANKL, OPG) may be proposed for the identification of health risk as early markers of immune disorders in school children living in areas of strontium geochemical provinces.

Key words: strontium, cytokines, markers.

© Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Starkova K.G., Luchnikova V.A., Bubnova O.A., Dianova D.G., Bezruchenko N.V., Vdovina N.A., 2015

Dolgikh Oleg Vladimirovich – Doctor of Medicine, Professor, Head of Immunobiological Diagnostic Methods Department, Professor of Human Ecology and Life Safety Department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Krivtsov Aleksandr Vladimirovich – Candidate of Medicine, Head of Immunogenetics Laboratory (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Starkova Kseniya Gennadiyevna – Candidate of Medicine, Head of Immunology and Allergology Laboratory (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Bubnova Olga Alekseevna – Junior Researcher, Immunobiological Diagnostic Methods Department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Dianova Dina Gumerovna – Candidate of Medicine, Senior Researcher in the Laboratory of Cellular Diagnostic Methods (e-mail: dianovadina@rambler.ru; tel. (342) 236-39-30).

Luchnikova Viktoriya Aleksandrovna – Junior Researcher, Immunobiological Diagnostic Methods Department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Vdovina Nadezhda Alekseevna – Junior Researcher, Immunobiological Diagnostic Methods Department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Bezruchenko Nadezhda Vladimirovna – immunologist of Immunobiological Diagnostic Methods Department, Master’s student in the Biological Faculty (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).