

# МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 576.53; 613.12

DOI: 10.21668/health.risk/2021.3.12

Читать  
онлайн



Научная статья

## МОДИФИКАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ИММУНОЦИТОВ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННАЯ С СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОГЕННЫХ И ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

И.Н. Аликина, О.В. Долгих

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

*Изложены результаты анализа иммунологических показателей гибели иммуноцитов у детского населения, проживающего и посещающего детские образовательные учреждения на территории интенсивного промышленного освоения (на примере условий Заполярья). Изучены ранние нарушения иммунологического профиля по критериям клеточной гибели иммуноцитов у детского населения в условиях комбинированного воздействия негативных химических техногенных и климатических факторов (на примере Крайнего Севера).*

*Обследовано 75 человек, проживающих и посещающих детские образовательные учреждения на территории интенсивного промышленного освоения Крайнего Севера. Приоритетным химическим экзогенным фактором в данном регионе является бенз(а)пирен, а ведущим климатическим – экстремально низкая температура воздуха в зимнее время года (средняя температура в зимний период  $-33,8^{\circ}\text{C}$ ). Группу сравнения составили 35 детей, проживающих и посещающих детские образовательные учреждения на территории Заполярья, условия которой характеризуются отсутствием воздействия техногенных химических факторов. Анализировалось содержание показателей иммунограммы:  $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$ , Annexin V-презентирующих клеток,  $\text{TNFR}\alpha$ ,  $\text{CD3}^+\text{HLA-DR}^+$ ,  $\text{bax}$  и  $\text{p53}$ . Исследования показателей клеточной гибели проводились с использованием флуоресцентного анализа методом проточной цитометрии. Также проведена оценка уровня специфической сенсибилизации IgG к бенз(а)пирену. Анализ осуществлялся методом аллгосорбентного тестирования с ферментной меткой.*

*В ходе проведенного исследования отмечена гиперэкспрессия значений параметров лимфоцитарно-клеточного профиля по отношению к показателям группы сравнения: установлен повышенный уровень экспрессии иммуноцитов, окрашенных Annexin V, в 1,4 раза, причем число клеток, окрашенных витальным красителем PI (Propidium Iodide), значительно (в 1,5 раза) превышает показатель клеток, окрашенных Annexin V, как и значения аналогичных показателей группы сравнения, что указывает на преимущественность программы гибели иммуноцитов по пути некроза. Наблюдается гиперэкспрессия рецептора  $\text{HLA-DR}^+$  на лимфоцитах (как относительного, так и абсолютного количества у 12,4–13,7 % детей). Повышен уровень экспрессии рецептора  $\text{CD95}^+$  (мембранный маркер апоптоза иммуноцитов) в 1,3 и 1,4 раза (относительное и абсолютное значения соответственно). Отмечен достоверно повышенный уровень содержания рецептора фактора некроза опухоли (TNFR), а также внутриклеточного онкосупрессорного антигена  $\text{p53}$ , проапоптического белка  $\text{bax}$  в 1,5, 1,2 и 1,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) по отношению к группе сравнения. Выявлено значимое различие продукции специфического IgG к бенз(а)пирену у детей группы наблюдения: уровень экспрессии в 2,4 раза превышал аналогичные значения в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Установлен повышенный риск избыточной экспрессии как мембранных факторов клеточной гибели  $\text{TNFR}$  ( $\text{RR} = 12,17$ ),  $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$  ( $\text{RR} = 5,42$ ),  $\text{HLA-DR}^+$  ( $\text{RR} = 4,80$ ), являющихся факторами апоптоза, так и внутриклеточных транскрипционных факторов, модулирующих апоптогенные сигналы  $\text{bax}$  ( $\text{RR} = 4,55$ ) и  $\text{p53}$  ( $\text{RR} = 3,71$ ), ассоциированный с сочетанным воздействием химических техногенных и экстремальных климатических факторов.*

*На примере детского населения, проживающего в условиях сочетанного воздействия химических техногенных и экстремальных климатических факторов Крайнего Севера, установлен дисбаланс иммунного статуса, который выражается в чрезмерной экспрессии мембранных ( $\text{HLA-DR}^+$ ,  $\text{CD95}^+$ ,  $\text{TNFR}$ ) и внутриклеточных ( $\text{p53}$ ,  $\text{bax}$ ) показателей с формированием программы клеточной гибели по пути некроза (в отличие от группы сравнения, испытывающей воздействие только природных экстремальных факторов), что характеризует состояние иммунодефицита и высокую вероятность риска возникновения вирусных инфекций и их осложнений.*

**Ключевые слова:** *гибель клеток, иммунограмма, детское население, экстремальные климатические условия, бенз(а)пирен.*

© Аликина И.Н., Долгих О.В., 2021

Аликина Инга Николаевна – младший научный сотрудник лаборатории методов клеточной диагностики отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: 27konti72@mail.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-9828>).

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Состояние здоровья населения отражает условия его жизни, состояние иммунной защиты и степень адаптированности к неблагоприятным условиям окружающей среды. Климатические условия на Крайнем Севере дискомфортны для человека, социальные условия жизни во многом уступают таковым в центральных и южных регионах страны. На севере Сибири расположены крупные промышленные комплексы, формирующие загрязнение среды обитания населения и угрозы негативного воздействия на здоровье жителей, в частности детского населения как контингента, наиболее чувствительного к изменениям окружающей среды [1–4]. В научной литературе имеется ряд данных, указывающих на изменение как уровня, так и структуры заболеваемости различных групп детей, проживающих в условиях техногенного неблагоприятия [5, 6]. В среде обитания человека существует огромное разнообразие химических соединений, представляющих собой гаптены. Канцерогенные вещества обладают способностью взаимодействовать друг с другом, активизироваться в благоприятных химических условиях, трансформироваться и / или длительное время сохраняться в любой органической и неорганической среде [5, 7]. Ароматические и полиароматические углеводороды занимают особое место среди токсичных веществ, загрязняющих атмосферу. Они содержатся в выбросах двигателей автотранспорта, промышленных предприятий, больших и малых систем отопления. Среди канцерогенов высокой распространенностью в условиях российского Севера обладает бенз(а)пирен. Один из путей поступления бенз(а)пирена в организм – ингаляционный. Вещество является химически и термически устойчивым, обладает свойствами биоаккумуляции, свойства канцерогена проявляется при концентрации более 0,1 мкг/100 м<sup>3</sup>. Помимо канцерогенного бенз(а)пирен оказывает мутагенное, эмбриотоксическое, гематотоксическое действия [6].

В условиях Севера сочетанное воздействие климатических и экзогенных средовых факторов негативно влияет на организм человека, вызывает развитие тяжелых стрессовых реакций, создает дополнительные трудности для растущего организма. Совокупность факторов оказывает существенное влияние на иммунную систему детского организма, приводя к развитию дезадаптационных реакций, снижению резервных возможностей и росту заболеваемости. Иммунная система обладает высокой чувствительностью ко многим факторам окружающей среды. В условиях высокой загрязненности атмосферного воздуха изменения здоровья чаще реализуются в виде вторичных иммунодефицитных состояний, способствующих распространенности сенсбилизации [8–10].

Особую актуальность представляет изучение состояния здоровья населения на промышленно развитых территориях Крайнего Севера России с выде-

лением особенностей маркеров эффекта, характеризующих ранние нарушения иммунологического здоровья детского населения в климатических условиях Заполярья.

**Целью исследования** является изучение ранних изменений индикаторных показателей иммунологического профиля (маркеры апоптоза) детского населения, проживающего в условиях комбинированного воздействия негативных химических техногенных и климатических факторов Крайнего Севера.

**Материалы и методы.** Обследованы 75 детей, проживающих на территории интенсивного промышленного освоения Крайнего Севера (Красноярский край) и посещающих детские образовательные учреждения. Приоритетным химическим экзогенным фактором в данном регионе является бенз(а)пирен, а ведущим климатическим – экстремально низкая температура воздуха в зимнее время года (средняя температура в зимний период –33,8 °С). Группу сравнения составили дети ( $n = 35$ ), проживающие и посещающие детские образовательные учреждения на территории Заполярья, условия которой характеризуются отсутствием воздействия техногенных химических факторов.

Исследование иммунного статуса включало анализ общего количества лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов с использованием стандартизированных общеклинических методов анализа на гематологическом анализаторе Drew-3 (D3) DrewScientific (Великобритания, США). В периферической крови детского населения были изучены мембранные и транскрипционные показатели клеточной гибели лимфоцитов, а также уровень специфических антител IgG к бенз(а)пирену.

Исследование включало определение количества следующих субпопуляций лимфоцитов: активированные Т-лимфоциты CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>. Уровень клеточной гибели лимфоцитов определяли окрашиванием Аннексином V-FITC (*Annexin V-FITC*, США) и одновременно витальным красителем пропидиум йодид (*Propidium Iodide, PI*, США), что позволяет идентифицировать клетки на ранней стадии апоптоза. Для оценки системы программируемой клеточной гибели исследовали внутриклеточную экспрессию белка – Вах, внутриклеточный маркер апоптоза – р53-протеин и поверхностную экспрессию рецептора к фактору некроза опухоли альфа 1-го типа (TNFR1 – tumor necrosis factor receptor). Лимфоциты выделяли из периферической крови путем центрифугирования в градиентном растворе фикола – урографина. Плотность градиента для фракционирования форменных элементов крови человека равна 1,077 г/см<sup>3</sup>. Выбор данных показателей основывался на гипотезе модификации комбинированной нагрузкой (экстремальность климатических температурных условий и контаминация экзогенными химическими гаптенами) процесса программируемой клеточной гибели в условиях сочетанного влияния факторов риска.

Имунофенотипирование лимфоцитов проводили с использованием моноклональных антител к поверхностным дифференцировочным антигенам на клетках иммунной системы методом проточной лазерной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре BD FACSCalibur (США). К суспензии лимфоцитов добавляли меченые флуорохромом моноклональные антитела (МАТ) к определенному маркеру лимфоцитов, в дальнейшем они связывались с лимфоцитами, которые экспрессируют маркер, соответствующий данному моноклональному антителу. Отмывали суспензии клеток путем центрифугирования, используя раствор CellWash (BD, США), тем самым избавляясь от не связавшихся с клетками антител.

Идентификация IgG специфического к бенз(а)пирену осуществлялась с использованием конъюгированных с пероксидазой реагинов методом аллорсорбентного тестирования, где аллерген сорбирован на целлюлозных подложках. Фотометрическое измерение оптической плотности проводили на иммуноферментном анализаторе Sunrise (Tecan, Austria).

Результаты были оценены с помощью универсальной программы анализа данных Statistica, Statsoft, Inc. (США). Значимость различий оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия между группами считали достоверным при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** По результатам фенотипирования иммуноцитов в группе наблюдения установлена гиперэкспрессия абсолютного и относительного уровней лимфоцитов активационных фенотипов – активированных Т-киллеров CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов (относительное значение), рецептора фактора некроза опухоли 1-го типа (TNFR1), а также внутриклеточного протеина, индуцирующего апоптоз p53. Нарушения относительно референтных уровней выявлены соответственно у 15,34; 12,1; 47,9 и 18,8 % детей.

У детей группы наблюдения установлена активация уровня клеток, окрашенных *Annexin V*, в 1,4 раза

выше соответствующих данных группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Клетки, окрашенные витальным красителем *PI*, значительно превышают по количеству фенотипы, окрашенные *Annexin V*, а также аналогичные показатели группы сравнения (в 1,5 раза). Это связано с тем, что клетки в условиях стресса быстрее достигают поздней стадии клеточной гибели или уже погибли (некроз). На поздних стадиях апоптоза клетки теряют целостность клеточной мембраны и поглощают витальный краситель [11, 12]. Однако данный показатель не выходил за пределы референтного уровня (таблица).

По результатам исследования отмечается повышение уровня экспрессии HLA-DR<sup>+</sup> на лимфоцитах по отношению к группе сравнения на 12,4–13,7 %. Уровень экспрессии маркера поздней активации HLA-DR<sup>+</sup> отражает выраженность иммунного ответа. Избыточность экспрессии Т-лимфоцитов может наблюдаться при многих заболеваниях, связанных с хроническим воспалением (аутоиммунные заболевания, гепатит С, пневмония и др.) [12, 13]. Установлен повышенный – в 1,3 и 1,4 раза (относительное и абсолютное значения соответственно) – уровень рецептора апоптоза иммуноцитов CD95<sup>+</sup>. Данный маркер экспрессируется на всех клетках иммунной системы и играет важную роль в контроле функционирования иммунной системы (жизненного цикла иммуноцитов). Повышение числа лимфоцитов, презентующих CD95<sup>+</sup>, является закономерным проявлением активации иммунной системы, что характерно для иммуновоспалительного процесса [14–16]. Также в крови детей группы наблюдения отмечено достоверное увеличение содержания рецептора к фактору некроза опухоли (TNFR) и клеточного опухолевого антигена p53 в 1,5 и 1,2 раза соответственно. Отмечено, что существенных различий с референтным уровнем проапоптотического белка *bax* выявлено не было, но наблюдалось значительное увеличение этого показателя – в 1,3 раза – по отношению к группе сравнения. Известно, что холодное

Показатели иммунологического профиля исследуемых групп детей

Показатель	Референтный уровень	Группа наблюдения, $M \pm m, n = 75$	Группа сравнения, $M \pm m, n = 35$
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	8–20	28,347 ± 1,199 <sup>*/**</sup>	27,359 ± 2,242 <sup>*</sup>
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> лимфоциты, абс., 10 <sup>9</sup> /дм <sup>3</sup>	0,1–0,5	0,775 ± 0,042 <sup>*/**</sup>	0,548 ± 0,052 <sup>*</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> лимфоциты, %	15–25	27,658 ± 0,953 <sup>*/**</sup>	20,200 ± 2,263
CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> лимфоциты, абс., 10 <sup>9</sup> /дм <sup>3</sup>	0,4–0,7	0,765 ± 0,038 <sup>**</sup>	0,605 ± 0,087
AnnexinV-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>+</sup> , %	0,5–1,0	0,828 ± 0,128 <sup>**</sup>	0,609 ± 0,109
AnnexinV-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>+</sup> , %	5,0–7,0	7,730 ± 1,237 <sup>**</sup>	5,090 ± 0,494
TNFR1, %	1–1,5	6,246 ± 0,430 <sup>*/**</sup>	4,118 ± 0,384 <sup>*</sup>
Bax, %	5–9	8,318 ± 0,645 <sup>**</sup>	6,312 ± 0,998
p53, %	1,2–1,8	5,570 ± 0,448 <sup>*/**</sup>	4,808 ± 0,425 <sup>*</sup>
IgG спец. к бенз(а)пирену, усл. ед.	0–0,2	0,198 ± 0,029 <sup>**</sup>	0,081 ± 0,008

Примечание: \* – статистически достоверное различие с референтным уровнем по непарному критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ ; \*\* – статистически достоверное различие с группой сравнения по непарному критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

воздействие вызывает большие сдвиги, выражающиеся в изменении количества белков, перераспределении их фракций и увеличении продуктов белкового обмена [17].

Установлена достоверная разница между группами по содержанию антител к бенз(а)пирену – продукция специфического IgG у детей группы наблюдения превышала аналогичные значения в группе сравнения в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ). При попадании в организм полициклические углеводороды под действием ферментов образуют эпокисоединение, реагирующее с гуанином, что препятствует синтезу ДНК, вызывает нарушение или приводит к возникновению мутаций, способствующих развитию раковых заболеваний, в том числе таких видов рака, как карциномы и саркомы [16]. Стресс-зависимый белок p53 в ответ на повреждение ДНК тормозит смену фаз клеточного цикла, тем самым индуцируя апоптоз клетки [18–20]. В нашем исследовании уровень экспрессии фосфопротеина p53, как и рецептора туморнекротического фактора TNFR, выходит за верхнюю границу, характерную для нормальных значений, в пробах крови детского населения группы наблюдения, достоверно превышая соответствующие показатели группы сравнения. Таким образом, можно сделать вывод, что экстремальные климатические условия и избыточность экзогенного гаптена бенз(а)пирена (о чем свидетельствует гиперэкспрессия специфического IgG) в совокупности выступают симуляторами апоптоза, способствуя избыточности данных белков, ускоряющих гибель иммунцитов у детского населения промышленного сибирского Заполярья.

В результате проведенной оценки относительного риска (RR)<sup>1</sup> развития нарушений событий апоптоза в условиях избыточной контаминации бенз(а)пиреном установлено, что в крови исследуемого детского контингента наблюдается повышенный риск избыточной экспрессии как мембранных факторов клеточной гибели: TNFR (RR = 12,17), CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> (RR = 5,42), HLA-DR<sup>+</sup> (RR = 4,80), являющихся афффекторами апоптоза, так и внутриклеточных транскрипционных факторов, модулирующих апоптогенные сигналы: bax (RR = 4,55) и p53 (RR = 3,71). При этом отсутствует риск поломки эффекторных структур апоптотического сценария, сцепленных с *Annexin V*.

Таким образом, для исследуемого детского контингента, проживающего на территории Крайнего Севера, аддитивный эффект экстремальных

климатических условий в сочетании с экзогенной гаптенной стимуляцией приводит к дисбалансу иммунного статуса, который выражается гиперэкспрессией показателей клеточной гибели: повышением уровня транскрипционных факторов онкосупрессии: bax и p53, а также мембранных факторов: TNFR, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, отвечающих за пусковой и транскрипционный этапы сценария апоптоза.

Необходимо отметить, что данное исследование представляет собой анализ особенностей модификации запрограммированной клеточной гибели у детского контингента в условиях сочетанного воздействия природных (экстремальных холодových) и техногенных (экзогенных химических) негативных факторов на процессы апоптоза, результаты которого позволяют прогнозировать риски возникновения ранних нарушений здоровья.

**Выводы.** Особенности параметров жизнеспособности иммунцитов у детского контингента в условиях сочетанного воздействия техногенных и экстремальных климатических факторов характеризуются гиперпродукцией специфического IgG к бенз(а)пирену, а также избыточной экспрессией показателей клеточной гибели: факторов транскрипции и онкосупрессии bax и p53; мембранных фенотипов, ответственных за реализацию апоптоза CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, TNFR как на стадии его запуска, так и на стадии внутриклеточной модуляции его программы, которая подвергается негативной модификации условиями гаптенного окружения (бенз(а)пирен), что определяет иммунодефицитное состояние иммунного профиля детей в данных условиях. Проведенная оценка относительного риска (RR) развития нарушений событий апоптоза в условиях избыточной контаминации бенз(а)пиреном показала, что при повышении концентрации бенз(а)пирена в крови исследуемого детского контингента установлен повышенный риск избыточной экспрессии как мембранных факторов клеточной гибели: TNFR (RR = 12,17), CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> (RR = 5,42), HLA-DR<sup>+</sup> (RR = 4,80), являющихся афффекторами апоптоза, так и внутриклеточных транскрипционных факторов, модулирующих апоптогенные сигналы: bax (RR = 4,55) и p53 (RR = 3,71).

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

<sup>1</sup> Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 143 с.

## Список литературы

1. MacGillivray D.M., Kollmann T.R. The role of environmental factors in modulating immune responses in early life // *Front. Immunol.* – 2014. – № 5. – P. 434. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00434
2. Вклад факторов окружающей среды в формирование здоровья детского населения / В.В. Васильев, Н.В. Ефимова, И.В. Безгодков, С.С. Бичев // *Медицина труда и экология человека.* – 2015. – № 3. – С. 71–74.
3. Медико-экологические проблемы длительного техногенного загрязнения почвы в Иркутской области / Н.В. Ефимова, И.В. Безгодков, С.С. Бичев, И.В. Донских, В.И. Гребенщикова // *Гигиена и санитария.* – 2012. – № 5. – С. 42–44.
4. Состояние здоровья у детей в зависимости от характера антропогенного загрязнения / В.В. Суменко, В.М. Боев, С.Е. Лебедькова, А.Н. Рошупкин // *Гигиена и санитария.* – 2012. – № 1. – С. 67–69.
5. Наумов Ю.А., Подкопаева О.В. Особенности, тенденции и последствия загрязнения атмосферы городов Приморского края // *Территория новых возможностей. Вестник Владивостокского государственного университета экономики и сервиса.* – 2013. – Т. 22, № 4. – С. 155–171.
6. Заболеваемость детского и взрослого населения Брянской области в зависимости от уровней радиационного, химического и сочетанного загрязнения: экологическое исследование / А.В. Корсаков, А.С. Домахина, В.П. Трошин, Э.В. Гегерь // *Экология человека.* – 2020. – № 7. – С. 4–14. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-7-4-14
7. Наумов Ю.А. Об особенностях загрязнения атмосферного воздуха на территории Дальнего Востока России // *Ойкумена. Регионоведческие исследования.* – 2020. – Т. 52, № 1. – С. 41–52. DOI: 10.24866/1998-6785/2020-1/41-52
8. Ревич Б.А., Шапошников Д.А. Особенности воздействия волн холода и жары на смертность в городах с резко-континентальным климатом // *Сибирское медицинское обозрение.* – 2017. – Т. 104, № 2. – С. 84–90. DOI: 10.20333/2500136-2017-2-84-90
9. Реакция иммунной системы и лимфоидной ткани на воздействие химических факторов окружающей среды / В.М. Боев, Д.А. Кряжев, В.В. Суменко, Е.А. Кряжева, А.И. Смолягин [Электронный ресурс] // *Современные проблемы науки и образования.* – 2017. – № 4. – С. 10. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26555> (дата обращения: 11.09.2021).
10. Прусаков В.М., Прусакова А.В. Динамика адаптационных процессов и риска заболеваемости населения на территории промышленных городов // *Гигиена и санитария.* – 2014. – Т. 93. – № 5. – С. 79–87.
11. Devitt A., Marshall L.J. The innate immune system and the clearance of apoptotic cells // *J. Leukoc. Biol.* – 2011. – Vol. 90. – P. 447–457. DOI: 10.1189/jlb.0211095
12. Особенности генетического полиморфизма и иммунного статуса у детей, экспонированных бенз(а)пиреном / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, К.Г. Горшкова, Д.Г. Дианова, Н.А. Вдовина, Е.А. Пирогова, В.А. Безденежных // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология.* – 2014. – № 4. – С. 97–100.
13. Duramad P., Holland N.T. Biomarkers of immunotoxicity for environmental and public health research // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2011. – Vol. 8, № 5. – P. 1388–1401. DOI: 10.3390/ijerph8051388
14. Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death / D. Wlodkowic, W. Telford, J. Skommer, Z. Darzynkiewicz // *Methods in Cell Biology.* – 2011. – Vol. 103. – P. 55–98. DOI: 10.1016/B978-0-12-385493-3.00004-8
15. Zhang L., Li L., Zhang G. Gene discovery, comparative analysis and expression profile reveal the complexity of the *Crassostrea gigas* apoptosis system // *Dev. Comp. Immunol.* – 2011. – Vol. 35. – P. 603–610. DOI: 10.1016/j.dci.2011.01.005
16. Camacho F.I., Bellas C., Corbacho C. Improved demonstration of immunohistochemical prognostic markers for survival in follicular lymphoma cells // *Mod. Pathol.* – 2011. – Vol. 24, № 5. – P. 698–707. DOI: 10.1038/modpathol.2010.237
17. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 и TNF- $\alpha$  у европеоидного населения Западной Сибири // *Иммунология.* – 2010. – № 4. – С. 176–181.
18. DNA binding cooperativity of p53 modulates the decision between cell-cycle arrest and apoptosis / K. Schlereth, R. Beinoraviciute-Kellner, M.K. Zeitlinger, A.C. Bretz, M. Sauer, J.P. Charles, F. Vogiatzi, E. Leich [et al.] // *Molecular Cell.* – 2010. – Vol. 38, № 3. – P. 356–368. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.02.037
19. Human Fc $\gamma$ RIIA induces anaphylactic and allergic reactions / F. Jönsson, D.A. Mancardi, W. Zhao., Y. Kita // *Blood.* – 2012. – Vol. 119, № 11. – P. 2533–2544. DOI: 10.1182/blood-2011-07-367334
20. Kreitinger J.M., Beamer C.A., Shepherd D.M. Environmental immunology: lessons learned from exposure to a select panel of immunotoxicants // *The Journal of Immunology.* – 2016. – Vol. 196, № 8. – P. 3217–3225. DOI: 10.4049/jimmunol.1502149

*Аликина И.Н., Долгих О.В. Модификация параметров жизнеспособности иммунцитов у детей, ассоциированная с сочетанным воздействием химических техногенных и экстремальных климатических факторов // Анализ риска здоровью. – 2021. – № 3. – С. 129–135. DOI: 10.21668/health.risk/2021.3.12*

Research article

## MODIFICATION OF IMMUNOCYTES VIABLE PARAMETERS IN CHILDREN ASSOCIATED WITH COMBINED EXPOSURE TO CHEMICAL TECHNOGENIC AND EXTREME CLIMATIC FACTORS

**I.N. Alikina, O.V. Dolgikh**

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

The article dwells on results obtained via immunologic parameters of immunocytes death among children living and attending educational establishments in regions beyond the Polar circle where industry was developing rather intensely.

Our research goal was to examine early disorders in immunologic profile as per immunocytes death among children living in Polar Regions under combined exposure to adverse chemical technogenic and extreme climatic factors.

75 children took part in the research (a test group); they lived and attended educational establishments in regions beyond the Polar circle where industry was developing rather intensely. Benzpyrene is a priority chemical exogenous factor in this region and a climatic one is extremely low temperature in winter (average temperature is  $-33,8^{\circ}\text{C}$  in this season). A reference group was made up of children ( $n = 35$ ) who lived and attended educational facilities in Polar Regions where there was no exposure to technogenic chemical factors. The authors analyzed several immunogram parameters including  $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$ , Annexin-V presenting cells,  $\text{TNFR}\alpha$ ,  $\text{CD3}^+\text{HLA-DR}^+$ , bax and p53. Cell death parameters were examined with fluorescent analysis via flow cytometry. Also, the authors assessed specific sensitivity of IgG to benzpyrene via allergosorbent testing with enzyme marker.

The research revealed hyperexpression of lymphocytes-cellular profile parameters in children from the test group in comparison with the reference one. They had 1.4 times higher expression of immunocytes stained with AnnexinV and a number of cells stained with PI (Propidium Iodide) was considerably higher than a number of cells stained with AnnexinV as well as the same parameters in the reference group (by 1.5 times) thus indicating that immunocytes predominantly die due to necrosis. There was hyperexpression of  $\text{HLA-DR}^+$  receptor on lymphocytes (both its relative and absolute quantity in 12.4–13.7 % children). Expression of  $\text{CD95}^+$  receptor (a membrane marker of immunocytes apoptosis) was 1.3 and 1.4 times higher (relative and absolute value accordingly). The authors detected an authentically elevated contents of tumor necrosis factor receptor (TNFR) as well as intracellular anti-tumor antigen p53, and antiapoptotic protein bax that were by 1.5, 1.2 and 1.3 times higher accordingly ( $p < 0.05$ ) against the reference group. There was a significant difference in production of IgG specific to benzpyrene in children from the test group since its expression was 2.4 times higher than in children from the reference group ( $p < 0.05$ ). The authors detected elevated risks of excessive expression both for membrane factors of cellular death TNFR ( $\text{RR} = 12.17$ ),  $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$  ( $\text{RR} = 5.42$ ),  $\text{HLA-DR}^+$  ( $\text{RR} = 4.80$ ) that were apoptosis affectors and for intracellular transcription factors bax ( $\text{RR} = 4.55$ ) and p53 ( $\text{RR} = 3.71$ ) that modulated apoptogenic signals. This risk was associated with combined exposure to chemical technogenic and extreme climatic conditions.

It was established that children living in the Polar Regions under combined exposure to chemical technogenic and extreme climatic conditions had imbalance in the immune status that became apparent via excessive expression of membrane ( $\text{HLA-DR}^+$ ,  $\text{CD95}^+$ , TNFR) and intracellular (p53, bax) parameters with cell death program shifting towards necrosis (as opposed to the reference group that was exposed only to extreme climatic factors). These parameters indicate there is immune deficiency and a significant probability of viral infections and their complications.

**Key words:** cell death, immunogram, children, extreme climatic conditions, benzpyrene.

### References

1. MacGillivray D.M., Kollmann T.R., The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Front. Immunol.*, 2014, no. 5, pp. 434. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00434
2. Vasil'ev V.V., Efimova N.V., Bezgodov I.V., Bichev S.S. Contribution of environmental factors to promoting children's health. *Medsitsina truda i ekologiya cheloveka*, 2015, no. 3, pp. 71–74 (in Russian).

© Alikina I.N., Dolgikh O.V., 2021

**Inga N. Alikina** – Junior researcher at the laboratory for cellular diagnostic methods of the Department for Immune-Biological Diagnostic Procedures (e-mail: 27konti72@mail.ru; tel.: +7(342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-9828>).

**Oleg V. Dolgikh** – Doctor of Medical Science, Head of the Department for Immune-Biological Diagnostic Procedures (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

3. Efimova N.V., Bezgodov I.V., Bichev S.S., Donskikh I.V., Grebenshchikova V.I. Medical and environmental problems of long-term technogenic pollution of the soil in the Irkutsk Region. *Gigiena i sanitariya*, 2012, no. 5, pp. 42–44 (in Russian).
4. Sumenko V.V., Boev V.M., Lebedkova S.E., Roshchupkin A.N. Children's health status in relation to the level and nature of anthropogenic pollution. *Gigiena i sanitariya*, 2012, no. 1, pp. 67–69 (in Russian).
5. Naumov Yu.A., Podkopaeva O.V. Features, trends and effects of air pollution to the cities of Primorsky region. *Territoriya novykh vozmozhnostei. Vestnik Vladivostokskogo gosudarstvennogo universiteta ekonomiki i servisa*, 2013, vol. 22, no. 4, pp. 155–171 (in Russian).
6. Korsakov A.V., Domahina A.S., Troshin V.P., Geger E.V. Child and adult morbidity in the Bryansk Region by the level of radiatoactive, chemical and combined contamination: an ecological study. *Ekologiya cheloveka*, 2020, no. 7, pp. 4–14. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-7-4-14 (in Russian).
7. Naumov Yu.A. On the features of air pollution in the Russian Far East. *Oikumena. Regionovedcheskie issledovaniya*, 2020, vol. 52, no. 1, pp. 41–52 (in Russian). DOI: 10.24866/1998-6785/2020-1/41-52
8. Revich B.A., Shaposhnikov D.A. Influence features of cold and heat waves to the population mortality – the city with sharply continental climate. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*, 2017, vol. 104, no. 2, pp. 84–90. DOI: 10.20333/2500136-2017-2-84-90 (in Russian).
9. Boev V.M., Kryazhev D.A., Sumenko V.V., Kryazheva E.A., Smolyagin A.I. Reaction of the immune system and lymphoid tissue on the impact of chemical factors in the environment. *Sovremennye problem nauki i obrazovaniya*, 2017, no. 4, pp. 10. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26555> (11.09.2021) (in Russian).
10. Prusakov V.M., Prusakova A.V. Dynamics of adaptation processes and morbidity risk for the population of the territory of industrial cities. *Gigiena i sanitariya*, 2014, vol. 93, no. 5, pp. 79–87 (in Russian).
11. Devitt A., Marshall L.J. The innate immune system and the clearance of apoptotic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2011, vol. 90, pp. 447–457. DOI: 10.1189/jlb.0211095
12. Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Gorshkova K.G., Dianova D.G., Vdovina N.A., Pirogova E.A., Bezdenzhnykh V.A. Patterns of gene polymorphism and immune status in children exposed to benz(a)pyrene. *Vestnik Permskogo Universiteta. Seriya: Biologiya*, 2014, no. 4, pp. 97–100 (in Russian).
13. Duramad P., Holland N.T. Biomarkers of immunotoxicity for environmental and public health research. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2011, vol. 8, no. 5, pp. 1388–1401. DOI: 10.3390/ijerph8051388
14. Wlodkowic D., Telford W., Skommer J., Darzynkiewicz Z. Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death. *Methods in Cell Biology*, 2011, vol. 103, pp. 55–98. DOI: 10.1016/B978-0-12-385493-3.00004-8
15. Zhang L., Li L., Zhang G. Gene discovery, comparative analysis and expression profile reveal the complexity of the *Crassostrea gigas* apoptosis system. *Dev. Comp. Immunol.*, 2011, vol. 35, pp. 603–610. DOI: 10.1016/j.dci.2011.01.005
16. Camacho F.I., Bellas C., Corbacho C. Improved demonstration of immunohistochemical prognostic markers for survival in follicular lymphoma cells. *Mod Pathol.*, 2011, vol. 24, no. 5, pp. 698–707. DOI: 10.1038/modpathol.2010.237 (in Spain).
17. Shevchenko A.V., Golovanova O.V., Konenkov V.I. Osobennosti polimorfizma promotornykh regionov genov tsitokinov IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 i TNF- $\alpha$  u evropeoidnogo naseleniya Zapadnoi Sibiri [Peculiarities of promoter region polymorphisms of IL1, IL4, IL5, IL6, IL10, and TNF $\alpha$  cytokine genes in a Caucasoid population of Western Siberia]. *Immunologiya*, 2010, no. 4, pp. 176–181 (in Russian).
18. Schlereth K., Beinoraviciute-Kellner R., Zeitlinger M.K., Bretz A.C., Sauer M., Charles J.P., Vogiatzi F., Leich E. [et al.]. DNA binding cooperativity of p53 modulates the decision between cell-cycle arrest and apoptosis. *Molecular Cell.*, 2010, vol. 38, no. 3, pp. 356–368. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.02.037
19. Jönsson F., Mancardi D.A., Zhao W., Kita Y. Human Fc $\gamma$ RIIA induces anaphylactic and allergic reactions. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 11, pp. 2533–2544. DOI: 10.1182/blood-2011-07-367334
20. Kreitinger J.M., Beamer C.A., Shepherd D.M. Environmental immunology: lessons learned from exposure to a select panel of immunotoxicants. *The Journal of Immunology*, 2016, vol. 196, no. 8, pp. 3217–3225. DOI: 10.4049/jimmunol.1502149

*Alikina I.N., Dolgikh O.V. Modification of immunocytes viable parameters in children associated with combined exposure to chemical technogenic and extreme climatic factors. Health Risk Analysis, 2021, no. 3, pp. 129–135. DOI: 10.21668/health.risk/2021.3.12.eng*

Получена: 09.09.2021

Принята: 14.09.2021

Опубликована: 30.09.2021