

Научная статья

ОЦЕНКА РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ У ДЕТЕЙ ВТОРИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА В УСЛОВИЯХ КОНТАМИНАЦИИ БИОСРЕД АЛЮМИНИЕМ И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ *FAS* RS1159120 И АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩЕГО ГЕНА ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА *TLR4* RS1927911**О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, О.А. Казакова, А.В. Ярома, Т.С. Ганич**

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

Вторичный иммунодефицит остается до конца не изученной медицинской проблемой, и, несмотря на значительное число международных и научных исследований, нет полной картины причин и следствий данной патологии. Доказано участие катионов металлов в формировании приобретенного иммунодефицита, в частности, установлены свойства алюминия в качестве иммуносупрессора, выявлены его мишени в организме для условий присутствия алюминия в биологических средах. Однако роль конкретных точечных генетических изменений – полиморфизмов в генах компартментов иммунной системы, определяющих риск развития негативных эффектов контаминации катионами металлов, в том числе алюминием, не оценена. Актуальным является поиск и обоснование иммуногенетических маркеров для создания индикаторной системы для задач диагностики и профилактики риска формирования у детей вторичных иммунодефицитных состояний, ассоциированных с контаминацией биосред алюминием.

*Обследовано 97 детей дошкольного возраста, проживающих в условиях повышенной экспозиции алюминием с атмосферным воздухом (зона воздействия металлургического производства), группы разделены по принципу наличия и отсутствия патологии иммунной системы – вторичный иммунодефицит (общий вариабельный иммунодефицит D83). Оценены маркеры иммунной системы: IgG специфический к алюминию, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD127, CD95⁺, CD284⁺, фагоцитарная активность, а также полиморфизм генов врожденного и приобретенного иммунитета *TLR4* A8595G (rs1927911) и *FAS* C14405T (rs1159120).*

*По результатам изучения состава биосред у детей со вторичным иммунодефицитом относительно условно здоровых отмечается повышение уровня алюминия в моче в 1,8 раза ($0,0095 \pm 0,0014$ против $0,0054 \pm 0,0009$ мг/дм³, референтный диапазон $< 0,0075$ мг/дм³). Показана достоверная обратная зависимость уровня экспрессии основных CD кластеров (CD3⁺: $r = -0,38$; CD4⁺: $r = -0,39$; CD8⁺: $r = -0,26$), а также индикаторных показателей фагоцитарной активности ($r = -0,22-0,23$) от уровня контаминации биосред (моча) алюминием. Установлено угнетение экспрессии кластеров T-зрелых лимфоцитов в 1,3–3,1 раза (CD127, CD95⁺, CD284⁺), изменение экспрессии специфического иммуноглобулина класса IgG к алюминию, что на фоне повышенной частоты аллеля C и генотипа CC гена *FAS* (rs1159120) в 1,2 и 1,5 раза соответственно, а также минорного аллеля G гена *TLR4* (rs1927911) в 1,8 раза относительно группы сравнения (OR = 4,05; CI: 1,41–11,59; $p = 0,006$; RR = 1,23; CI: 1,02–1,48 и OR = 2,01; CI: 1,04–3,91; $p = 0,037$; RR = 1,64; CI: 1,46–1,94) приводит к риску формирования вторичного иммунодефицита (RR = 1,23–1,64), толл-зависимый и fas-зависимый механизм которого ассоциирован с контаминацией алюминием. Иммунные (CD127, CD95⁺, CD284⁺) и генетические (C аллель гена *FAS* rs1159120 и G аллель гена *TLR4* rs1927911) маркеры рекомендуется использовать в качестве индикаторных при оценке состояния иммунной системы с целью профилактики риска (RR = 1,23–1,64) формирования вторичных иммунодефицитов, ассоциированных с контаминацией биосред алюминием.*

Ключевые слова: алюминий, дети, относительный риск, вторичный иммунодефицит, кластеры клеточной дифференцировки, ген *FAS*, ген *TLR4*.

© Долгих О.В., Зайцева Н.В., Казакова О.А., Ярома А.В., Ганич Т.С., 2024

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

Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель (e-mail: znv@ferisk.ru; тел.: 8 (342) 237-25-34; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2356-1145>).

Казакова Ольга Алексеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник-заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: chakina2011@yandex.ru; тел.: 8 (922) 646-56-87; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0114-3930>).

Ярома Алеся Вячеславовна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных методов диагностики (e-mail: lady.yaroma@mail.ru; тел.: 8 (919) 499-66-41; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0932-3063>).

Ганич Татьяна Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики (e-mail: tatka.kuleshova@yandex.ru; тел.: 8 (952) 318-57-45; ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-2582-162X>).

Одной из задач профилактики развития хронических интоксикаций является выявление дисбаланса микроэлементов, в том числе таких, как алюминий. В организме человека алюминий не несет никакой биологической функции, однако продолжительное пребывание в биосредах элемента и его соединений может негативно повлиять на кроветворную систему, скелет, нервную систему и иммунологические показатели¹ [1, 2]. Этот металл негативно влияет не только на структуру клетки, но и на ее функционал, в частности, способность к пролиферации [3]. Алюминий способен активизировать экспрессию гена апоптоза – *FAS* [4]. D. Cheng et al. выявили и доказали, что алюминий повреждает макрофаги, что способствует развитию вторичного иммунодефицита [1, 5]. По экспериментальным данным В. Wang et al. выявлено, что алюминий также влияет на микрофлору кишечника, снижая ее разнообразие, и способствует изменению общей структуры сообщества кишечной микробиоты, что отражается на состоянии иммунной системы [6].

Среди типов дисфункций иммунной системы особое место занимает вторичный (приобретенный) иммунодефицит, который может встречаться в различных возрастных группах. В возрасте 4–6 лет дети подвергаются повышенной вирусной и бактериальной нагрузке, а нарушение дифференцировки, пролиферации и адаптации клеток вместе со снижением их числа и активности приводит к частой простудной заболеваемости с возможными бактериальными осложнениями [7].

Несмотря на то, что вторичный иммунодефицит не является врожденным, тем не менее полиморфизм генов, регулирующих иммунный ответ, имеет немаловажное значение для формирования устойчивости организма к воздействию химических и биологических факторов среды обитания.

Рецепторы семейства толл-подобных рецепторов TLR относятся к системе врожденного иммунитета и первыми распознают лиганды вирусов, бактерий, простейших, грибов и запускают иммунную реакцию [8]. Существуют свидетельства, что полиморфизм генов TLR, в частности TLR4, который представляет собой сигнальную молекулу, регулируемую экспрессию цитокинов, связан с аллергическими, инфекционными и аутоиммунными заболеваниями [9, 10].

Система *FAS*-опосредованного апоптоза ($CD95^+$) контролирует физиологические и патологические клеточные процессы дифференцировки и гибели. Исследование мутаций в гене *FAS* может способствовать пониманию патогенеза аутоиммунных заболеваний и формирования иммунодефицита [11]. Антиген *FAS* играет центральную роль в регуляции запрограммированной гибели клеток и экс-

прессируется на поверхности В- и Т-лимфоцитов [12, 13].

Поиск новых иммунологических и генетических маркеров, ассоциированных с риском развития у детей вторичного иммунодефицита, модифицированного алюминием, является актуальным в свете новых угроз и вызовов, продиктованных изменением санитарно-гигиенической ситуации в связи с аэрогенным поступлением новых токсикантов, формирующих негативные эффекты для здоровья.

Цель исследования – оценить риск формирования вторичного иммунодефицита, ассоциированного с особенностями полиморфизма гена клеточной гибели *FAS* rs1159120 и гена антигенраспознающего толл-подобного рецептора *TLR4* rs1927911 у детей в условиях контаминации биосред алюминием.

Материалы и методы. В исследовании приняла участие 97 детей в возрасте от 3 до 6 лет, проживающих в зоне влияния выбросов комбината цветной металлургии Западной Сибири. Группа наблюдения включала 50 человек в возрасте $5,0 \pm 0,3$ г. с вторичным иммунодефицитным состоянием (общий вариабельный иммунодефицит, D83), группа сравнения включала 47 условно здоровых детей в возрасте $4,3 \pm 0,3$ г. Группы сопоставимы по возрасту, материальному статусу и этнической принадлежности.

Все обследования проводились на базе ФБУН «ФНЦ МРТ УРЗН» (одобрено этическим комитетом, протокол № 8 от 17.07.2023) с соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации ВМА.

Количественное определение алюминия в моче осуществлялось на квадрупольном масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500cx (Agilent Technologies, USA) с октопольной реакционно/столкновительной ячейкой (ORS) в соответствии с МУК 4.1.3589-19 «Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой».

Иммунологические исследования показателей сыворотки крови осуществлялись унифицированным методом исследования – иммуноферментным анализом крови на приборе Biotek ELx808 (США).

Было выполнено исследование CD-кластеров дифференцировки клеток и внутриклеточных маркеров системы апоптоза на проточном цитометре BD FACSCalibur (США) с использованием соответствующих моноклональных антител с помощью универсальной программы CellQuestPro. Исследование включало определение количества $CD127^+$, $CD16^+56^+$, $CD19^+$, $CD3^+$, $CD3^+ CD8^+$ методом проточной цитометрии.

Показатели фагоцитарной активности определялись с использованием в качестве объектов фаго-

¹ Способ оценки влияния алюминия на иммунный статус: патент № 2629597 Российская Федерация, МПК G01N33/53 / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Е.А. Отавина, О.А. Бубнова, Д.Г. Дианова, Н.В. Безрученко, И.В. Перминова; заявитель и патентообладатель ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». – № 2016126799; заявл. 04.07.2016; опубл. 30.08.2017, Бюл. № 25.

цитоза формализированных эритроцитов барана методом В.Н. Каплина.

У всех обследуемых был изучен полиморфизм гена клеточной гибели *FAS* rs1159120 и антигенраспознающего гена толл-подобного рецептора *TLR4* rs1927911 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе CFX96 Real Time System.

Обработка данных осуществлялась с помощью программ Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США) и Microsoft Excel 2013. Определяли среднее значение (X) и его стандартное отклонение (SD). Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро – Уилка. Сравнение средних осуществлялось t -методом Стьюдента. Для оценки зависимости исследуемых иммунных маркеров от уровня контаминации биосред алюминнием использовался корреляционный метод Пирсона. Оценка риска проводилась с использованием расчета показателя относительного риска развития негативных процессов, ассоциированных с полиморфизмом кандидатных генов (RR). При уровне значимости более 95 % ($p < 0,05$) отличия считали достоверными.

Результаты и их обсуждение. По результатам химического анализа установлено, что у детей группы наблюдения относительно группы сравнения отмечается достоверно повышенный уровень алюминния в моче в 1,8 раза ($0,0095 \pm 0,0014$ против $0,0054 \pm 0,0009$ мг/дм³, референтный диапазон $< 0,0075$ мг/дм³).

Установлено, что у детей группы наблюдения достоверно повышен специфический иммунный ответ по критерию IgG к алюминнию в 1,8 раза ($p < 0,05$) относительно данных группы сравнения [14].

Сравнительный анализ кластеров клеточной дифференцировки в анализируемых группах позволил выявить достоверный дисбаланс регуляторных медиаторов в группе наблюдения, ассоциированных с иммунодефицитом: снижение абсолютного уровня Т-зрелых CD3⁺-лимфоцитов, отвечающих за клеточный иммунитет (в 1,4 раза). Показана достоверная обратная зависимость уровня CD3⁺ от уровня контаминации биосред (моча) алюминнием ($r = -0,38$; $p < 0,05$). Н.А. Алпатова и соавт. в своих исследованиях отмечают снижение доли CD3⁺-лимфоцитов в группе животных, получавших алюминний² [15]; установлен дефицит Т-хелперов CD3⁺CD4⁺ (в 1,3 раза), отвечающих за распознавание антигенов и регуляцию иммунного ответа, а также выявлена достоверная обратная зависимость с контаминацией биосред (моча) алюминнием ($r = -0,39$). В других исследованиях команда Y. She et al. отмечают снижение активности иммуноцитов Th1, секретирующих провоспалитель-

ные цитокины в условиях экспозиции алюминнием [16]. В нашем исследовании показано, что дефицит эффекторных Т-цитотоксических лимфоцитов CD3⁺CD8⁺ (в 1,4 раза) приводит к отмене запуска апоптоза, что связано с негативными эффектами алюминния на клеточный иммунитет ($r = -0,26$; $p < 0,05$) [16, 17]. Настоящим исследованием верифицировано угнетение продукции (в 3,1 раза) Т-регуляторных лимфоцитов CD127⁺, а также достоверное снижение экспрессии пускового фактора апоптоза – мембранного рецептора клеточной гибели FAS-рецептора – CD95⁺ (в 1,6–1,8 раза), контролирующей напряженность иммунного ответа Т-эффекторных клеток [18]; достоверное угнетение экспрессии Toll-подобного рецептора 4 (CD284⁺ отн./абс. в 1,6–1,8 раза), что отменяет адекватные провоспалительные медиаторные эффекты противовирусного и противобактериального иммунитета относительно аналогичных показателей у детей группы сравнения ($p < 0,05$).

Оценка фагоцитарной активности показала, что группа наблюдения отличается низким относительным числом фагоцитирующих клеток и их поглотительной способности на 10 % относительно данных группы сравнения (табл. 1), при этом повышение концентрации алюминния в биосредах (моча) имеет обратную зависимость от уровня фагоцитарной активности, что верифицирует его иммуносупрессивные свойства³ [19, 20].

Результаты изучения особенностей полиморфизма генов рецептора клеточной гибели *FAS* (rs1159120) и толл-подобного рецептора *TLR4* (rs1927911) у детей с иммунодефицитом, экспонированных алюминнием, позволили выявить значимое ($p < 0,05$) повышение частоты аллеля С гена *FAS* (rs1159120) и генотипа СС в 1,2 и 1,5 раза соответственно, а также значимое ($p < 0,05$) повышение частоты аллеля G гена *TLR4* (rs1927911) в 1,8 раза соответственно относительно данных группы сравнения. Дикый аллель С гена *FAS* (rs1159120) и минорный аллель G гена *TLR4* (rs1927911) выступают в качестве факторов, увеличивающих вероятность наступления нежелательных сценариев (вероятность проявлений иммунодефицитного состояния), ассоциированных с контаминацией биосред (моча) алюминнием ($OR = 4,05$; $CI: 1,41–11,59$; $p = 0,006$; $RR = 1,23$; $CI: 1,02–1,48$) и ($OR = 2,01$; $CI: 1,04–3,91$; $p = 0,037$; $RR = 1,64$; $CI: 1,46–1,94$) (табл. 2). При этом абсолютный уровень экспрессии CD3⁺CD95⁺ активированных Т-лимфоцитов и CD284⁺ как маркеров апоптоза, экспрессии цитокинов и эффективности противоиного иммунитета при данных полиморфизмах гена *FAS* (rs1159120) и гена толл-подобного рецептора *TLR4*

² Способ диагностики вторичного иммунодефицита: патент № 2749781 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/53 / Н.С. Зайцева, Л.П. Сизякина, А.Д. Багмет, М.В. Харитоновна; заявитель ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. – № 2020137481, заявл. 16.11.2020, опубл. 16.06.2021.

³ Иммунотерапия: руководство для врачей / под ред. Р.М. Хаитова, Р.И. Атауллханова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 672 с.

Таблица 1

Особенности иммунного профиля детей обследуемых групп

Показатель	Референтный диапазон	Наблюдение	Сравнение	<i>p</i> (<i>t</i>)
IgG к алюминию, усл. ед.	0–0,1	0,16 ± 0,05	0,09 ± 0,02	0,0220
CD3 ⁺ -лимфоциты, абс., 10 ⁹ л	0,69–2,54	1,54 ± 0,13	2,08 ± 0,24	0,0000
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, абс., 10 ⁹ л	0,41–1,59	0,84 ± 0,08	1,10 ± 0,13	0,0010
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты, абс., 10 ⁹ л	0,19–1,14	0,60 ± 0,07	0,83 ± 0,09	0,0000
CD127 ⁺ лимфоциты, абс., 10 ⁹ дм ³	0,015–0,04	0,07 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,0000
CD95 ⁺ лимфоциты, абс., 10 ⁹ дм ³	0,43–0,87	0,290 ± 0,04	0,511 ± 0,05	0,0008
CD95 ⁺ лимфоциты, отн. %	20–40	15 ± 1,05	25 ± 2,15	0,0000
CD284 ⁺ лимфоциты, абс., 10 ⁹ дм ³	0,2–0,4	0,208 ± 0,03	0,380 ± 0,04	0,0008
CD284 ⁺ лимфоциты, отн. %	10–20	11 ± 0,95	18 ± 0,97	0,0000
Процент фагоцитоза, %	35–60	48,44 ± 1,98	53,76 ± 3,16	0,0060
Фагоцитарное число, усл. ед.	0,8–1,2	0,88 ± 0,05	1,02 ± 0,08	0,0070
Абсолютный фагоцитоз, 10 ⁹ дм ³	1–2	1,24 ± 0,13	1,93 ± 0,31	0,0000

Таблица 2

Результаты генотипирования кандидатных генов *FAS* (rs1159120) и *TLR4* (rs1927911)

Ген	Аллель	Наблюдение % (N)	Сравнение % (N)	χ^2 (<i>p</i>)	OR (CI)	Генотип	Наблюдение % (N)	Сравнение % (N)	χ^2 (<i>p</i>)	OR (CI)
<i>FAS</i> C14405T (rs1159120)	С	92,4 (85)	75,0 (30)	7,52 (0,006)	4,05 (1,41–11,59)	CC	84,8 (39)	55,0 (11)	7,70 (0,02)	4,56 (1,38–15,03)
						CT	15,2 (7)	40,0 (8)		
	TT	0 (0)	5,0 (1)							
<i>TLR4</i> A8595G (rs1927911)	A	72,9 (70)	84,4 (103)	4,34 (0,037)	0,50 (0,26–0,97)	AA	58,3 (28)	73,8 (45)	3,50 (0,17)	0,50 (0,22–1,12)
						AG	29,2 (14)	21,3 (13)		
	G	27,1 (26)	15,6 (19)			2,01 (1,04–3,91)	GG	12,5 (6)		

отличался достоверным снижением экспрессии данных фенотипов в группе наблюдения в 1,6–1,8 раза, отражая прогнозируемое угнетение клеточной гибели и контроллинга элиминации протеинов как инфекционных агентов, так и собственных нефункциональных белков (табл. 2).

Таким образом, настоящим исследованием верифицирована гипотеза, подтверждающая результаты ранее проведенных исследований эффектов алюминия *in vitro* как иммуносупрессора, действующего на ряд приоритетных регуляторных кластеров клеточной дифференцировки, а именно на фенотипы Т-зрелых лимфоцитов, включая Т-хелперы, эффекторные клетки, Т-регуляторные лимфоциты, в том числе обладающие рецепторами контроллинга апоптоза и цитокиновой регуляции (CD284⁺; CD95⁺), дисбаланс которых достоверно сопряжен с измененной частотой риска ассоциированных аллелей генов врожденного и адаптивного иммунитета *TLR4* A8595G (rs1927911) и *FAS* C14405T (rs1159120) у детей с установленным диагнозом вторичного иммунодефицита в условиях контаминации биосред алюминием (**RR = 1,23–1,64**).

Выводы. Показано, что в условиях полиморфизма гена клеточной гибели *FAS* rs1159120 и гена антигенраспознающего толл-подобного рецептора *TLR4* rs1927911 у детей с избыточным содержанием алюминия в биологических средах (превышение референтного уровня в 1,3 раза) формируется риск (**RR = 1,23–1,63**) развития вторичного иммунодефицитного состояния.

Настоящим исследованием показаны иммуносупрессивные эффекты алюминия на клетки иммунной системы (Т-регуляторные лимфоциты CD127⁺, Т-лимфоциты с фенотипом CD95⁺ – снижение продукции в 1,6–3,1 раза, CD284⁺ фенотип толл-подобных рецепторов в 1,6–1,8 раза), верифицированные достоверными **моделями зависимости** угнетения экспрессии Т-лимфоцитарных кластеров, ассоциированных с **содержанием алюминия в моче** (CD3⁺: *r* = -0,38; CD4⁺: *r* = -0,39; CD8⁺: *r* = -0,26), что проявляется в виде отмены контроллинга апоптоза, угнетения активации его рецептор-опосредованного пути и противoinфекционного иммунитета (CD284⁺; CD95⁺).

Установлена достоверно повышенная распространенность кандидатных аллелей и генотипов

генов врожденного и адаптивного иммунитета – аллеля С и генотипа СС гена *FAS* (rs1159120) в 1,2 и 1,5 раза соответственно, а также минорного аллеля G гена *TLR4* (rs1927911) в 1,8 раза относительно группы сравнения, ассоциированная с контаминацией биосред (моча) алюминием (*OR* = 4,05; *CI*: 1,41–11,59; *p* = 0,006; *RR* = 1,23; *CI*: 1,02–1,48) и (*OR* = 2,01; *CI*: 1,04–3,91; *p* = 0,037; *RR* = 1,64; *CI*: 1,46–1,94), что снижает устойчивость организма к биологическим факторам среды обитания вирусного и бактериального происхождения (CD284⁺) и формирует риск развития вторичного иммунодефицитного состояния (D83).

Рекомендуется использовать иммунологические (CD284⁺; CD95⁺) и генетические (аллель С и генотип СС гена *FAS* (rs1159120) и аллель G гена *TLR4* (rs1927911)) показатели в качестве маркеров эффекта и чувствительности, ассоциированных с риском (*RR* = 1,23–1,64) развития у детей вторичного иммунодефицита, модифицированного алюминием.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Скупневский С.В., Иванов Д.В. Воздействие алюминия и его соединений на функции органов и тканей человека (обзорная статья) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2023. – № 1. – С. 110–124. DOI: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-7
2. Индикаторные показатели иммунного и генетического статуса населения, ассоциированные с экспозицией алюминием / Ю.А. Челакова, О.В. Долгих, М.А. Гусельников, А.С.А. Путилова, А.С. Галиуллина // Анализ риска здоровью – 2020 совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью Rise-2020 и круглым столом по безопасности питания: материалы X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2-х т. / под ред. А.Ю. Поповой, Н.В. Зайцевой. – Пермь: Пермский национальный исследовательский политехнический университет, 2020. – Т. 1. – С. 621–625.
3. Metabolomic analysis reveals the mechanism of aluminum cytotoxicity in HT-29 cells / L. Yu, J. Wu, Q. Zhai, F. Tian, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen // Peer J. – 2019. – Vol. 7. – P. e7524. DOI: 10.7717/peerj.7524
4. Effect of aluminium on neural behavior and the expression of Bcl-2 and Fas in hippocampus of weaning rats / C. Jin, Q. Liu, J. Wang, Y. Cai // Wei sheng yan jiu [Journal of hygiene research]. – 2009. – Vol. 38, № 1. – P. 1–3.
5. Chlorogenic acid protects against aluminum toxicity via MAPK/Akt signaling pathway in murine RAW264.7 macrophages / D. Cheng, X. Zhang, J. Tang, Y. Kong, X. Wang, S. Wang // J. Inorg. Biochem. – 2019. – Vol. 190. – P. 113–120. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2018.11.001
6. Dietary aluminium intake disrupts the overall structure of gut microbiota in Wistar rats / B. Wang, C. Wu, L. Cui, H. Wang, Y. Liu, W. Cui // Food Sci. Nutr. – 2022. – Vol. 10, № 11. – P. 3574–3584. DOI: 10.1002/fsn3.2955
7. Лусс Л.В. Вторичные иммунодефицитные состояния у детей. Взгляд клинициста к назначению иммуномодулирующей терапии // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2018. – № 4 (55). – С. 4–18. DOI: 10.24411/2500-1175-2018-00017
8. Лебедева О.П., Кирко Р. Экспрессия толл-подобных рецепторов в женском репродуктивном тракте и ее гормональная регуляция (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – Т. 4, № 3. – С. 3–17. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1
9. Diamond G., Legarda D., Ryan L.K. The innate immune response of the respiratory epithelium // Immunol. Rev. – 2000. – Vol. 173. – P. 27–38. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2000.917304.x
10. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека / Л.В. Ковальчук, О.А. Свитич, Л.В. Ганковская, А.М. Мирошниченкова, В.А. Ганковский // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2012. – № 2. – С. 147–153.
11. Dual Role of Fas/FasL-Mediated Signal in Peripheral Immune Tolerance / A. Yamada, R. Arakaki, M. Saito, Y. Kudo, N. Ishimaru // Front. Immunol. – 2017. – Vol. 8. – P. 403. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00403
12. Teachey D.T., Lambert M.P. Diagnosis and management of autoimmune cytopenias in childhood // Pediatr. Clin. North Am. – 2013. – Vol. 60, № 6. – P. 1489–1511. DOI: 10.1016/j.pcl.2013.08.009
13. Особенности экспрессии мРНК генов FAS-опосредованного апоптотического сигналинга при остром инфекционном мононуклеозе у детей до и после лечения / Н.А. Сахарнов, Д.И. Князев, В.Д. Цветкова, Л.А. Солнцева, О.В. Уткин // Молекулярная диагностика 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2017. – Т. 2. – С. 489–491.
14. Иммунологические маркеры нарушения здоровья детей, проживающих в условиях загрязнения атмосферного воздуха алюминием / О.В. Долгих, Е.А. Отавина, А.В. Кривцов, И.Г. Жданова, М.А. Гусельников, И.Н. Аликина, Н.А. Никоношина // Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. – 2019. – № 2 (311). – С. 15–18.
15. Общая характеристика адьювантов и механизм их действия (часть 1) / Н.А. Алпатова, Ж.И. Авдеева, С.Л. Лысыкова, О.В. Головинская, Л.А. Гайдерова // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 245–256. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256
16. Effects of Aluminum on Function of cultured Splenic T and D Lymphocytes in Rats / Y. She, N. Wang, C. Chen, Y. Zhu, S. Xia, C. Hu, Y. Li // Biol. Trace Elem. Res. – 2012. – Vol. 147, № 1–3. – P. 246–250. DOI: 10.1007/s12011-011-9307-3
17. Лабораторная диагностика первичных иммунодефицитов: значимость исследования минорных субпопуляций лимфоцитов / М.В. Белевцев, И.С. Сакович, А.Н. Купчинская, М.Г. Шитикова, В.Н. Пархамович, Л.Б. Коростелева, С.О. Шарапова, Н.В. Липай // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 381–393.

18. Первичный иммунодефицит у пациента с синдромом Кабуки / И.С. Долгополов, Л.Ю. Гривцова, О.К. Устинова, М.Ю. Рыков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2022. – Т. 67, № 6. – С. 104–112. DOI: 10.21508/1027-4065-2022-67-6-104-112

19. Мишина М.Н. Первичные иммунодефициты [Электронный ресурс] // Красота и Медицина. – 2021. – URL: www.krasotaimedicina.ru (дата обращения: 19.08.2024).

20. Отавина Е.А., Долгих О.В., Лужецкий К.П. Особенности иммунного статуса женщин с избыточной массой тела в условиях контаминации биосред алюминием // Анализ риска здоровью – 2024: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2-х т. / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Изд-во ПНИПУ, 2024. – С. 206–210.

Оценка риска формирования у детей вторичного иммунодефицита в условиях контаминации биосред алюминием и полиморфизма гена клеточной гибели FAS rs1159120 и антигенраспознающего гена толл-подобного рецептора TLR4 rs1927911 / О.В. Долгих, Н.В. Зайцева, О.А. Казакова, А.В. Ярома, Т.С. Ганич // Анализ риска здоровью. – 2024. – № 3. – С. 13–20. DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.02

UDC 613.955

DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.02.eng



Research article

ASSESSING RISKS OF SECONDARY IMMUNODEFICIENCY IN CHILDREN WITH ALUMINUM CONTAMINATION IN BIOLOGICAL MEDIA AND POLYMORPHISM OF THE CELL DEATH GENE *FAS RS1159120* AND THE ANTIGEN-RECOGNIZING GENE OF THE TOLL-LIKE RECEPTOR *TLR4 RS1927911*

O.V. Dolgikh, N.V. Zaitseva, O.A. Kazakova, A.V. Yaroma, T.S. Ganich

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

Secondary immunodeficiency remains an incompletely understood medical problem, and despite a significant number of international and scientific studies, there is no complete picture of the causes and consequences of this pathology. Metal cations have been proven to participate in the formation of acquired immunodeficiency. In particular, aluminum properties as an immune suppressor have been established and its targets in the body have been identified in case aluminum was present in biological media. However, no evaluations have been accomplished so far as regards the role of specific point genetic changes, that is, polymorphisms in the genes of immune system compartments that determine the risk of negative effects caused by contamination with metal cations, including aluminum. It is quite relevant to search and substantiate immunogenetic markers to create an indicator system for diagnostics and prevention of secondary immunodeficiency states in children associated with aluminum contamination in biological media.

We examined 97 preschool children exposed to elevated levels of airborne aluminum (in an area influenced by a metallurgical production). The study groups were divided depending on either presence or absence of secondary immunodeficiency as immune system pathology (common variable immunodeficiency D83). Several markers of the immune system were evaluated: aluminum-specific IgG, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD127, CD95⁺, CD284⁺, and phagocytic activity; we also evaluated polymorphism of TLR4 A8595G (rs1927911) and FAS C14405T (rs1159120) genes of innate and acquired immunity.

© Dolgikh O.V., Zaitseva N.V., Kazakova O.A., Yaroma A.V., Ganich T.S., 2024

Oleg V. Dolgikh – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Immunobiological Diagnostic Methods (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Nina V. Zaitseva – Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Scientific Director (e-mail: znv@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-25-34; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2356-1145>).

Olga A. Kazakova – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher-Head of the Laboratory of Immunogenetics (e-mail: chakina2011@yandex.ru; tel.: +7 (922) 646-56-87; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0114-3930>).

Alesya V. Yaroma – Junior Researcher at the Laboratory of Cellular Diagnostic Methods (e-mail: lady.yaroma@mail.ru; tel.: +7 (919) 499-66-41; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0932-3063>).

Tatyana S. Ganich – Junior Researcher at the Laboratory of Immunogenetics (e-mail: tatka.kuleshova@yandex.ru; tel.: +7 (952) 318-57-45; ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-2582-162X>).

According to the results obtained by examining biological media composition, children with secondary immunodeficiency had 1.8 times higher aluminum levels in urine (0.0095 ± 0.0014 vs. 0.0054 ± 0.0009 mg/dm³, reference range < 0.0075 mg/dm³) as opposed to their conditionally healthy peers. We established an authentic inverse dependence between the expression level of the main CD clusters (CD3⁺: $r = -0.38$; CD4⁺: $r = -0.39$; CD8⁺: $r = -0.26$) as well as indicators of phagocytic activity ($r = -0.22-0.23$) and the level of aluminum contamination in biological media (urine). Expression of T-mature lymphocyte clusters was found to be inhibited by 1.3–3.1 times (including T-helper, effector T-lymphocytes, NK-killers, regulatory lymphocytes) and we also detected some changes in expression of specific immunoglobulin of IgG class to aluminum. All this results in an unacceptable level of relative risk (RR = 1.23–1.63) of developing secondary immunodeficiency against increased frequency of allele C and genotype CC of FAS gene (rs1159120) by 1.2 and 1.5 times respectively, as well as minor allele G of TLR4 gene (rs1927911) by 1.8 times relative to the comparison group (OR = 4.05; CI: 1.41–11.59; $p = 0.006$; RR = 1.23; CI: 1.02–1.48) and (OR = 2.01; CI: 1.04–3.91; $p = 0.037$; RR = 1.64; CI: 1.46–1.94). Toll-dependent and FAS-dependent mechanism of this risk is associated with aluminum contamination. It is recommended to use a combination of immune and genetic markers as indicator ones when evaluating the immune system state, in order to prevent the risk (RR = 1.23–1.63) of secondary immunodeficiency associated with aluminum contamination in biological media.

Keywords: aluminum, children, relative risk, secondary immunodeficiency, cell differentiation clusters, FAS gene, TLR4 gene.

References

1. Skupnevskiy S.V., Ivanov D.V. The effect of aluminum and its compounds on the functions of human organs and tissues (review article). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. Elektronnoe izdanie*, 2023, no. 1, pp. 110–124. DOI: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-7 (in Russian).
2. Chelakova Yu.A., Dolgikh O.V., Gusel'nikov M.A., Putilova A.S.A., Galiullina A.S. Indikatornye pokazateli immunnogo i geneticheskogo statusa naseleniya, assotsiirovannye s ekspozitsiei allyuminiem [Indicators of immune and genetic status of the population associated with exposure to aluminum]. *Analiz riska zdorov'yu – 2020 sovmestno s mezhdunarodnoi vstrechei po okruzhayushchei srede i zdorov'yu Rise-2020 i kruglym stolom po bezopasnosti pitaniya: materialy Kh Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem: in 2 volumes*. In: A.Yu. Popova, N.V. Zaitseva eds. Perm, Perm National Research Polytechnic University Publ., 2020, vol. 1, pp. 621–625 (in Russian).
3. Yu L., Wu J., Zhai Q., Tian F., Zhao J., Zhang H., Chen W. Metabolomic analysis reveals the mechanism of aluminum cytotoxicity in HT-29 cells. *Peer J.*, 2019, vol. 7, pp. 7524. DOI: 10.7717/peerj.7524
4. Jin C., Liu Q., Wang J., Cai Y. [Effect of aluminium on neural behavior and the expression of Bcl-2 and Fas in hippocampus of weaning rats]. *Wei sheng yan jiu [Journal of hygiene research]*, 2009, vol. 38, no. 1, pp. 1–3 (in Chinese).
5. Cheng D., Zhang X., Tang J., Kong Y., Wang X., Wang S. Chlorogenic acid protects against aluminum toxicity via MAPK/Akt signaling pathway in murine RAW264.7 macrophages. *J. Inorg. Biochem.*, 2019, vol. 190, pp. 113–120. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2018.11.001
6. Wang B., Wu C., Cui L., Wang H., Liu Y., Cui W. Dietary aluminium intake disrupts the overall structure of gut microbiota in Wistar rats. *Food Sci. Nutr.*, 2022, vol. 10, no. 11, pp. 3574–3584. DOI: 10.1002/fsn3.2955
7. Luss L.V. Secondary immunodeficiency in children. The clinician's view on immunomodulators prescription. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii*, 2018, no. 4 (55), pp. 4–18. DOI: 10.24411/2500-1175-2018-00017 (in Russian).
8. Lebedeva O.P., Qirko R. Expression of toll-like receptors in the female reproductive tract and its hormone regulation (review). *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskikh issledovaniy*, 2018, vol. 4, no. 3, pp. 3–17. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1 (in Russian).
9. Diamond G., Legarda D., Ryan L.K. The innate immune response of the respiratory epithelium. *Immunol. Rev.*, 2000, vol. 173, pp. 27–38. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2000.917304.x
10. Kovalchuk L.V., Svitich O.A., Gankovskaya L.V., Miroshnichenkova A.M., Gankovskii V.A. The role of Toll-like receptors in pathogenesis of human infection. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, 2012, no. 2, pp. 147–153 (in Russian).
11. Yamada A., Arakaki R., Saito M., Kudo Y., Ishimaru N. Dual Role of Fas/FasL-Mediated Signal in Peripheral Immune Tolerance. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8, pp. 403. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00403
12. Teachey D.T., Lambert M.P. Diagnosis and management of autoimmune cytopenias in childhood. *Pediatr. Clin. North Am.*, 2013, vol. 60, no. 6, pp. 1489–1511. DOI: 10.1016/j.pcl.2013.08.009
13. Sakharnov N.A., Knyazev D.I., Tsvetkova V.D., Solntsev L.A., Utkin O.V. Osobennosti ekspressii mRNK genov FAS-oposredovannogo apoptoticheskogo signalinga pri ostrom infektsionnom mononukleoze u detei do i posle lecheniya [Features of mRNA expression of FAS-mediated apoptotic signaling genes in acute infectious mononucleosis in children before and after treatment]. *Molekulyarnaya diagnostika 2017: sbornik trudov IX Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*, 2017, vol. 2, pp. 489–491 (in Russian).
14. Dolgikh O.V., Otavina E.A., Krivtsov A.V., Zhdanova I.G., Gusel'nikov M.A., Alikina I.N., Nikonoshina N.A. Immunological markers of children health problems living in the conditions of atmospheric air pollution by aluminum. *ZNiSO*, 2019, no. 2 (311), pp. 15–18 (in Russian).
15. Alpatova N.A., Avdeeva Zh.I., Lysikova S.L., Golovinskaya O.V., Gayderova L.A. General characteristics of adjuvants and their mechanism of action (Part 1). *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*, 2020, vol. 20, no. 4, pp. 245–256. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-25 (in Russian).

16. She Y., Wang N., Chen C., Zhu Y., Xia S., Hu C., Li Y. Effects of Aluminum on Function of cultured Splenic T and D Lymphocytes in Rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2012, vol. 147, no. 1–3, pp. 246–250. DOI: 10.1007/s12011-011-9307-3

17. Belevtsev M., Sakovich I., Kupchinskaia A., Shytikova M., Parhamovich V., Korosteleva L., Sharapova S., Lipay N. Laboratory diagnostics of primary immunodeficiencies: significance of evaluation of minor lymphocyte subpopulations. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 381–393 (in Russian).

18. Dolgopolov I.S., Grivtsova L.Yu., Ustinova O.K., Rykov M.Yu. Primary immunodeficiency in a patient with Kabuki syndrome. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii*, 2022, vol. 67, no. 6, pp. 104–112. DOI: 10.21508/1027-4065-2022-67-6-104-112 (in Russian).

19. Mishina M.N. Pervichnye immunodefitsity [Primary immunodeficiencies]. *Krasota i Meditsina*, 2021. Available at: www.krasotaimedicina.ru (August 19, 2024) (in Russian).

20. Otavina E.A., Dolgikh O.V., Luzhetsky K.P. Osobennosti immunnogo statusa zhenshchin s izbytochnoi massoi tela v usloviyakh kontaminatsii biosred alyuminiem [Features of the immune status of women with excess body weight under aluminum contamination of biological media]. *Analiz riska zdorov'yu – 2024: materialy XIV Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem: in 2 volumes*. In: Prof. A.Yu. Popova, Acad. RAS N.V. Zaitseva eds. Perm, Perm National Research Polytechnic University Publ., 2024, pp. 206–210 (in Russian).

Dolgikh O.V., Zaitseva N.V., Kazakova O.A., Yaroma A.V., Ganich T.S. Assessing risks of secondary immunodeficiency in children with aluminum contamination in biological media and polymorphism of the cell death gene FAS rs1159120 and the antigen-recognizing gene of the toll-like receptor TLR4 rs1927911. Health Risk Analysis, 2024, no. 3, pp. 13–20. DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.02.eng

Получена: 30.08.2024

Одобрена: 14.09.2024

Принята к публикации: 20.09.2024