

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ СТРОНЦИЕМ

Отавина Е.А., Долгих О.В., Старкова К.Г., Казакова О.А.,
Мазунина А.А.

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Резюме. Состояние иммунной системы может служить приоритетным индикаторным показателем адаптационных возможностей организма в условиях повышенной внешнесредовой химической нагрузки, в том числе и связанной с экспозицией металлами, которые в зависимости от условий воздействия способны оказывать как активирующее, так и угнетающее воздействие на параметры иммунной регуляции. Цель работы – анализ иммунорегуляторных маркеров у детского населения при употреблении питьевой воды с повышенным содержанием стронция (на примере Пермского края). Проведено иммунологическое обследование детей в возрасте от 7 до 12 лет, которые постоянно проживают на территории с повышенным содержанием стронция в воде хозяйственно-бытового водоснабжения. Группу сравнения составили дети из «условно чистого» района. Исследовали особенности изменения клеточного звена иммунитета (фагоцитоз), гуморальные факторы иммунной защиты (иммуноглобулины), формирование специфической сенсибилизации к стронцию, а также процессы запуска и регуляции апоптоза. Показано, что при повышенном в 3,68 раза уровне стронция в водопроводной воде на территории наблюдения среднее содержание стронция в крови детей группы наблюдения было в 1,55 раза выше, чем у детей в группе сравнения. При этом выявлено возрастание фагоцитарной активности по критериям фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса, в среднем в 1,2 раза относительно группы сравнения. У 80,0% обследованных отмечено снижение содержания сывороточных иммуноглобулинов по критерию IgG по сравнению с показателями физиологической нормы, а также достоверное снижение продукции IgG и повышение IgM относительно уровней в группе сравнения. Показано возрастание общей сенсибилизации у 55,0% детей группы наблюдения по содержанию IgE общего по сравнению с возрастной нормой и превышение референтного уровня специфической сенсибилизации к стронцию по критерию IgG в среднем в 2,49 раза. Выявлено нарушение процесса запуска апоптоза, связанное с уменьшением количества CD95⁺ лимфоцитов и TNFR1⁺ клеток (кратность снижения в 2,78 раза относительно нормы), смещение баланса апоптогенных белков при снижении экспрессии Bcl-2 в среднем в 2,57 раза, а также уменьшение экспрессии транскрипционного фактора p53 в 2,83 раза относительно референтного интервала. Таким образом, показана способность стронция влиять на важнейшие показатели иммунной регуляции у детского населения при повышенном содержании металла в источниках питьевого водоснабжения. Указанные изменения могут служить в качестве индикаторных параметров состояния здоровья населения в условиях внешнесредовой экспозиции стронцием.

Ключевые слова: иммунная регуляция, фагоцитоз, иммуноглобулины, маркеры гиперчувствительности, апоптоз, стронций

Адрес для переписки:

Долгих Олег Владимирович
ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
614045, Россия, г. Пермь, ул. Монастырская, 82.
Тел.: 8 (342) 236-39-30.
Факс: 8 (342) 237-25-34.
E-mail: oleg@fcrisk.ru

Address for correspondence:

Dolgikh Oleg V.
Federal Research Center for Medical and Preventive Health
Risk Management Technologies
614045, Russian Federation, Perm, Monastyrskaya str., 82.
Phone: 7 (342) 236-39-30.
Fax: 7 (342) 237-25-34.
E-mail: oleg@fcrisk.ru

Образец цитирования:

Е.А. Отавина, О.В. Долгих, К.Г. Старкова, О.А. Казакова, А.А. Мазунина «Изменение иммунорегуляторных показателей у детей, экспонированных стронцием» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 899-904.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-899-904

© Отавина Е.А. и соавт., 2018

For citation:

E.A. Otavina, O.V. Dolgikh, K.G. Starkova, O.A. Kazakova, A.A. Mazunina "Changes of immunoregulatory indexes in children exposed to strontium", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 899-904. doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-899-904

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-899-904

CHANGES OF IMMUNOREGULATORY INDEXES IN CHILDREN EXPOSED TO STRONTIUM

Otavina E.A., Dolgikh O.V., Starkova K.G., Kazakova O.A.,
Mazunina A.A.

Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Abstract. Evaluation of the immune system parameters can be used in order to assess capacity to adapt under conditions of increased external chemical load, including exposure to metals, which can exert either activating and inhibitory effects upon immune regulation parameters. The aim of this work was the analysis of immunoregulatory markers in a children's population who consumed water with high strontium content (a sample from the Perm region). We carried out immunological evaluation of the children aged 7 to 12 years, living at a territory with a high strontium content in the drinking water. The comparison group included children from the conventionally clean region. We studied differential changes in cellular immunity (phagocytosis rates), humoral factors of immune defense (serum immunoglobulins), development of specific sensitization for strontium, as well as the processes of apoptosis triggering and regulation. A 3.68-fold increase in strontium levels was shown in fresh water within observation area, and the average blood strontium content in the children of appropriate observation group was 1.55-fold higher than in children of the comparison group. At the same time, 1.2-fold increase in phagocytic activity determined as phagocytic number and phagocytic index was found, as compared to the control group. In 80% of the subjects, a reduction in serum IgG level was observed when compared to physiological norm, as well as a significant decrease in IgG and enhance in IgM production against the levels found in the comparison group. We have also shown an enhanced total sensitization in 55.0% of the observation group as shown by the total IgE test compared with normal age ranges, as well as excessive specific sensitization to strontium by 2.49 times, according to the IgG criterion. Disturbance in apoptosis triggering was associated with decreased number of CD95⁺ lymphocytes and TNFR1⁺ cells (2.8-fold compared to reference values), shifted balance in apoptogenic proteins, an average of 2.6-fold decrease in Bcl-2 expression, a 2.8-fold reduction of the p53 transcription factor expression relative to the reference interval. Thus, we have shown an ability of strontium excess in drinking water to influence the most important indices of immune regulation in pediatric population. These changes may serve as indices of populational health status under of external strontium exposure.

Keywords: immune regulation, phagocytosis, immunoglobulins, hypersensitivity markers, apoptosis, strontium

Введение

Изменение активности иммунной системы, важнейшей составляющей поддержания гомеостаза, участвующей в контроле многих физиологических процессов, в том числе гиперчувствительности, может служить приоритетным индикаторным показателем адаптационных возможностей организма в условиях повышенной внешнесредовой химической нагрузки, особенно у детского населения [2, 3, 7, 11]. Использование современных диагностических иммунологических технологий позволяет провести объективную и достоверную оценку иммунного ответа у населения в условиях повышенной нагрузки

химическими факторами, в том числе природного происхождения.

Проблема повышенного содержания металлов в среде обитания как за счет источников естественного происхождения, так и в условиях техногенного загрязнения, в том числе и стронция, определяет необходимость проведения научно-исследовательских работ по выявлению особенностей адаптации населения к измененным условиям среды, особенно учитывая их способность воздействовать на функциональную активность иммунной системы [1, 4, 8, 9].

Цель работы — анализ иммунорегуляторных маркеров у детского населения при употреблении питьевой воды с повышенным содержанием стронция (на примере Пермского края).

Материалы и методы

Проведено иммунологическое обследование детей в возрасте от 7 до 12 лет (средний возраст $9,2 \pm 0,20$ лет), которые постоянно проживают на территории с повышенным содержанием стронция в воде хозяйственно-бытового водоснабжения. Группу сравнения составили дети (средний возраст $8,6 \pm 0,20$ лет) из «условно чистого» района. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и соматической заболеваемости.

Популяции и субпопуляции лимфоцитов изучали на проточном цитометре FACSCalibur фирмы Becton Dickinson (США) с использованием универсальной программы CellQuestPro, а также определяли маркеры апоптоза – рецептор к фактору некроза опухоли $TNF\alpha$ ($TNFR1^+$), белки p53, Вах, Bcl-2, используя панели меченых моноклональных антител, при этом суммарно регистрировали не менее 10000 событий. Исследование гиперчувствительности по критерию IgG, специфического к стронцию, осуществля-

ли методом аллергосорбентного тестирования, оценку фагоцитарной активности лейкоцитов с помощью формализированных эритроцитов барана; сывороточные иммуноглобулины IgG, IgA, IgM методом радиальной иммунодиффузии по Манчини; IgE общий, интерлейкины IL-10, IL-17 с использованием тест-систем для иммуноферментного анализа на анализаторе “E1_x808IU” (BioTek, США). Измерение содержания стронция в пробах крови выполняли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на масс-спектрометре Agilent 7500_{cx} (Agilent Technologies Inc., США). Анализ химических соединений в водопроводной воде проводили в соответствии с НСАМ № 480-Х «Определение элементного состава природных и питьевых вод методом ICP-MS» (2006).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью описательной статистики в программе Statistica 6.0 (StatSoft, США) с расчетом среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (m), а также двухвыборочного

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПОЗИЦИИ СТРОНЦИЕМ (n = 40)

TABLE 1. THE CHANGE OF IMMUNE REGULATION PARAMETERS IN CHILDREN UNDER STRONTIUM EXPOSURE (n = 40)

Показатель Index	Группа наблюдения Observation group	Группа сравнения Comparison group
Абсолютный фагоцитоз, 10⁹/л Absolute phagocytosis, 10 ⁹ /l	1,86±0,119	1,752±0,099
Фагоцитарное число, у. е. Phagocytic number, c. u.	0,90±0,044*	0,765±0,039
Фагоцитарный индекс, у. е. Phagocytic index, c. u.	1,86±0,039*	1,589±0,041
IgG, г/л IgG, g/l	10,29±0,229* **	11,0±0,274
IgM, г/л IgM, g/l	1,54±0,055*	1,35±0,039
IgA, г/л IgA, g/l	1,35±0,051	1,37±0,061
IgE общий, МЕ/мл IgE total, IU/ml	272,2±56,52**	499,0±95,22
IgG специфический к стронцию, у. е. IgG specific to strontium, c. u.	0,249±0,040**	0,14±0,052
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	1,399±0,171*	3,574±0,491
IL-17, пг/мл IL-17, pg/ml	0,965±0,122*	2,78±0,727

Примечание. * – различие достоверно относительно группы сравнения ($p < 0,05$); ** – различие достоверно относительно референтного интервала ($p < 0,05$).

Note. *, the difference is reliable relative to the comparison group ($p < 0.05$); **, the difference is reliable relative to the reference interval ($p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПОЗИЦИИ СТРОНЦИЕМ (n = 15)

TABLE 2. THE CHANGE OF APOPTOSIS MARKERS IN CHILDREN UNDER STRONTIUM EXPOSURE (n = 15)

Показатель Index	Референтный интервал Reference interval	Группа наблюдения Observation group
CD3 ⁺ CD95 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, 10 ⁹ /l	0,4-0,7	0,159±0,025* **
CD3 ⁺ CD95 ⁺ лимфоциты, % CD3 ⁺ CD95 ⁺ lymphocytes, %	15,0-25,0	7,2±1,15* **
Вах, %	5,0-9,0	6,753±1,224
Bcl-2, %	1,0-1,5	0,389±0,065*
TNFR1 ⁺ , %	1,0-1,5	0,36±0,077*
p53, %	1,2-1,8	0,424±0,201*

Примечание. * – различие достоверно относительно референтного интервала ($p < 0,05$); ** – различие достоверно относительно группы сравнения ($p < 0,05$).

Note. *, the difference is reliable relative to the reference interval ($p < 0.05$); **, the difference is reliable relative to the comparison group ($p < 0.05$).

t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительная оценка содержания химических веществ в водопроводной воде на исследуемых территориях установила достоверное повышение содержания стронция на территории наблюдения в 3,68 раза по средним значениям полугодовых наблюдений (территория наблюдения 0,604±0,041 мг/л, территория сравнения 0,164±0,063 мг/л, $p < 0,05$). В то же время химико-аналитическое исследование выявило, что среднее содержание стронция в крови детей группы наблюдения было в 1,55 раза выше, чем у детей в группе сравнения (группа наблюдения 0,059±0,022 мкг/мл, группа сравнения 0,038±0,004 мкг/мл).

Проведенное клинико-лабораторное исследование показало, что в основной группе обследованных детей повышена активность со стороны врожденного клеточного иммунитета (табл. 1). В частности, у 55,0% детей наблюдается стимуляция фагоцитарного звена по критерию фагоцитарного числа и у 77,5% – по критерию фагоцитарного индекса, в среднем в 1,2 раза относительно группы сравнения ($p < 0,05$).

Одновременно у 80,0% обследованных отмечено снижение содержания сывороточных иммуноглобулинов по критерию IgG по сравнению с показателями физиологической нормы

($p < 0,05$). Кроме того, выявлено достоверное снижение продукции IgG и повышение IgM относительно уровней в группе сравнения. В то же время показано возрастание общей сенсибилизации у 55,0% детей группы наблюдения по содержанию IgE общего по сравнению с возрастной нормой ($p < 0,05$). Наблюдалось превышение референтного уровня специфической сенсибилизации к стронцию по критерию IgG в среднем в 2,49 раза ($p < 0,05$), причем содержание специфических антител к стронцию у детского контингента основной группы превышало данный показатель в контрольной группе в 1,78 раза.

При исследовании особенностей межклеточной иммунной регуляции отмечено смещение баланса цитокиновых медиаторов с про- и противовоспалительным действием, в частности достоверное снижение продукции IL-10 и IL-17 относительно уровней в группе сравнения в 2,55 и 2,88 раза соответственно ($p < 0,05$).

Большинство параметров CD-иммунограммы соответствовало референтному диапазону, за исключением выявленного достоверного снижения активационного маркера CD95 (табл. 2) по абсолютному и относительному показателю ($p < 0,05$). Причем значение данного маркера в основной группе было ниже значения группы сравнения в 1,57 раза ($p < 0,05$). В то же время отмечены негативные тенденции в регуляции клеточного гомеостаза по маркерам апоптоза, когда, наряду с нарушением процесса запуска апоптоза

при уменьшении количества CD95⁺ лимфоцитов и TNFR1⁺ клеток (кратность снижения в 2,78 раза относительно нормы), наблюдалось нарушение баланса апоптогенных белков Вах и Bcl-2, связанное со снижением экспрессии Bcl-2 в среднем в 2,57 раза, а также уменьшение экспрессии транскрипционного фактора p53 в 2,83 раза относительно референтного интервала ($p < 0,05$).

Заключение

Результаты исследований иммунной регуляции у детского населения, проживающего в условиях внешнесредового воздействия стронция, выявили изменения иммунной реактивности, гиперчувствительности и апоптоза, которые проявились:

- 1) повышением активности фагоцитарного звена иммунитета по критерию фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса;
- 2) снижением продукции сывороточных иммуноглобулинов IgG и повышением IgM, возраст-

танием уровня специфических антител к стронцию по критерию IgG;

3) угнетением содержания активационного маркера CD95, TNFR1, а также регуляторных белков апоптоза Bcl-2 и p53.

Таким образом, показана способность стронция влиять на важнейшие показатели иммунной регуляции у детского населения при повышенном содержании металла в источниках питьевого водоснабжения. Данные литературы также подтверждают возможность функциональных изменений иммунной реактивности под воздействием стронция [5, 6, 10]. В нашем исследовании у обследованной группы детского населения выявлены существенные сдвиги параметров как гуморального, так и клеточного звена иммунитета на фоне повышения специфической сенсibilизации к металлу, а также нарушение процесса запуска и регуляции апоптоза. Указанные изменения могут служить в качестве индикаторных параметров состояния здоровья населения в условиях внешнесредовой экспозиции стронцием.

Список литературы / References

1. Дианова Д.Г., Вдовина Н.А., Пирогова Е.А., Рочев В.П. Количественная оценка биомаркеров апоптоза и клеточной регуляции у детей с повышенным содержанием стронция в организме // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2 (1). С. 129-131. [Dianova D.G., Vdovina N.A., Pirogova E.A., Rochev V.P. Quantitative evaluation of biomarkers of the apoptosis and cell regulation in children having high concentration of strontium in a body. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2 (1), pp. 129-131. (In Russ.)]
2. Засорин Б.В., Курмангалиев О.М., Ермуханова Л.С. Особенности иммунного статуса у населения урбанизированных территорий с повышенным содержанием тяжелых металлов // Гигиена и санитария, 2012. № 3. С. 17-19. [Zasorin B.V., Kurmangaliev O.M., Ermukhanova L.S. Features of the immune status in the population of urban areas with a high content of heavy metals. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2012, no. 3, pp. 17-19. (In Russ.)]
3. Ланин Д.В., Зайцева Н.В., Землянова М.А., Долгих О.В., Дианова Д.Г. Характеристика регуляторных систем у детей при воздействии химических факторов среды обитания // Гигиена и санитария, 2014. Т. 93, № 2. С. 23-26. [Lanin D.V., Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Dolgikh O.V., Dianova D.G. Characteristics of regulatory system in children exposed to the environmental chemical factors. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2014, Vol. 93, no. 2, pp. 23-26. (In Russ.)]
4. Старкова К.Г., Долгих О.В., Вдовина Н.А., Отавина Е.А. Особенности иммунных и эндокринных регуляторных показателей у детей в условиях хронической экспозиции стронцием // Здоровье населения и среда обитания, 2015. № 12. С. 41-44. [Starkova K.G., Dolgikh O.V., Vdovina N.A., Otavina E.A. Features of changes in immune and endocrine regulatory indicators at chronic exposure to strontium in children. *Zdorovye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Environment*, 2015, no. 12, pp. 41-44. (In Russ.)]
5. Berksoy Hayta S., Durmuş K., Altuntaş E.E., Yildiz E., Hisarciklio M., Akyol M. The reduction in inflammation and impairment in wound healing by using strontium chloride hexahydrate. *Cutan. Ocul. Toxicol.*, 2018, Vol. 37, no. 1, pp. 24-28.
6. Buache E., Velard F., Bauden E., Guillaume C., Jallot E., Nedelec J.M., Laurent-Maquin D., Laquerriere P. Effect of strontium-substituted biphasic calcium phosphate on inflammatory mediators production by human monocytes. *Acta Biomater.*, 2012, Vol. 8, no. 8, pp. 3113-3119.

7. 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.
8. Lehmann I, Sack U, Lehmann J. Metal ions affecting the immune system. *Met. Ions Life Sci.*, 2011, Vol. 8, pp. 157-185.
9. McKee A.S., Fontenot A.P. Interplay of innate and adaptive immunity in metal-induced hypersensitivity. *Curr. Opin. Immunol.*, 2016, Vol. 42, pp. 25-30.
10. Topal F, Yonem O., Tuzcu N., Tuzcu M. Ataseven H., Akyol M. Strontium chloride: can it be a new treatment option for ulcerative colitis? *Biomed. Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 530687. doi: 10.1155/2014/530687.
11. Yang S.N., Hsieh C.C., Kuo H.F., Lee M.S., Huang M.Y., Kuo C.H., Hung C.H. The effects of environmental toxins on allergic inflammation. *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2014, Vol. 6, no. 6, pp. 478-484.

Авторы:

Отавина Е.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и аллергологии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Долгих О.В. — д.м.н., профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Старкова К.Г. — к.б.н., заведующая лабораторией иммунологии и аллергологии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Казакова О.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Мазунина А.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Authors:

Otavina E.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Allergology, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Dolgikh O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunobiological Diagnostic Methods, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Starkova K.G., PhD (Biology), Head, Laboratory of Immunology and Allergology, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Kazakova O.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Mazinina A.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Поступила 14.02.2018
Принята к печати 06.03.2018

Received 14.02.2018
Accepted 06.03.2018