

МАРКЕРЫ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ АЛЮМИНИЯ

Старкова К.Г., Долгих О.В., Отавина Е.А., Безрученко Н.В.,
Гусельников М.А., Мазунина А.А.

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

Резюме. Исследование особенностей адаптации организма в условиях техногенного изменения среды обитания, особенно у детского населения, позволит сформировать комплекс маркерных диагностических критериев для оценки состояния здоровья и раннего выявления патологических тенденций формирования повышенной чувствительности к факторам внешнесредового окружения и повысить эффективность лечебно-профилактических мероприятий. Металлы способны изменять функциональную активность иммунной системы, оказывая, в зависимости от свойств металла, концентрации, источника и продолжительности воздействия, как иммуностимулирующее, так и супрессивное влияние на иммунную реактивность. Цель работы — исследование особенностей изменения маркеров гиперчувствительности у детей, проживающих в условиях внешнесредового воздействия алюминия. Проведено обследование детского населения школьного возраста от 7 до 11 лет (средний возраст $8,82 \pm 0,11$ лет), постоянно проживающего на территории активного промышленного воздействия, связанного с загрязнением среды обитания соединениями алюминия. Группу сравнения составили дети из «условно чистого» района с допустимыми показателями качества среды обитания. Оценивали особенности формирования сенсibilизации к алюминию с вовлечением как реактинового, так и альтернативного медиаторного (лейкотриены и простагландины) механизма, а также участие цитокинов в развитии повышенной чувствительности к металлу в эксперименте *ex vivo*. Показано, что повышенный уровень металла в крови детей группы наблюдения, в среднем в 1,43 раза от показателей группы сравнения (группа наблюдения $0,020 \pm 0,005$ мкг/мл, группа сравнения $0,014 \pm 0,003$ мкг/мл), сопровождается увеличением содержания IgE-антител в 2,13 раза относительно референтных значений ($213,55 \pm 88,10$ МЕ/мл при норме $< 100,0$ МЕ/мл), специфических IgG-антител к алюминию — в 1,55 раза относительно группы сравнения (группа наблюдения $0,157 \pm 0,054$ у. е., группа сравнения $0,101 \pm 0,041$ у. е.), а также повышением спонтанной продукции лейкотриенов C4/D4/E4 в 2,09 раза (группа наблюдения $80,60 \pm 19,44$ пг/мл; группа сравнения $38,51 \pm 2,40$ пг/мл), которая возрастала при экспериментальной стимуляции алюминием в 1,67 раза, при этом уровень простагландина F2 α у детей группы наблюдения был повышен в 1,9 раза (группа наблюдения $892,62 \pm 97,20$ пг/мл; группа сравнения $457,11 \pm 132,99$ пг/мл) ($p < 0,05$). В условиях экспериментального воздействия металла

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:

К.Г. Старкова, О.В. Долгих, Е.А. Отавина, Н.В. Безрученко, М.А. Гусельников, А.А. Мазунина «Маркеры гиперчувствительности у детского населения в условиях воздействия алюминия» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 165–170. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-165-170
© Старкова К.Г. и соавт., 2019

For citation:

K.G. Starkova, O.V. Dolgikh, E.A. Otavina, N.V. Bezruchenko, M.A. Guselnikov, A.A. Mazunina “Hypersensitivity markers in children under environmental aluminum exposure”, Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 165–170. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-165-170
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-165-170

ex vivo отмечены преимущественно угнетающие эффекты алюминия на продукцию цитокинов IL-4 в 2,13 раза по сравнению с контрольными значениями (группа наблюдения $0,64 \pm 0,23$ пг/мл; группа сравнения $1,36 \pm 0,09$ пг/мл), IL-17 – в 1,90 раза (группа наблюдения $1,08 \pm 0,27$ пг/мл; группа сравнения $2,05 \pm 0,37$ пг/мл) ($p < 0,05$). Исследованные показатели могут применяться в качестве маркеров повышенной чувствительности к алюминию и использоваться для мониторинга здоровья населения и прогнозирования.

Ключевые слова: маркеры гиперчувствительности, специфические антитела, лейкотриены, простагландины, цитокины, алюминий

HYPERSENSITIVITY MARKERS IN CHILDREN UNDER ENVIRONMENTAL ALUMINUM EXPOSURE

Starkova K.G., Dolgikh O.V., Otavina E.A., Bezruchenko N.V., Guselnikov M.A., Mazunina A.A.

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

Abstract. The studies in the organism adaptation for the conditions of technogenic environmental changes, especially in child population, will allow to design a set of diagnostic markers for assessing the health status and early detection of pathological trends for development of hypersensitivity to environmental substances and improve efficiency of therapeutic and preventive measures. Metals are capable to alter functional activity of immune system by producing both immunostimulating and suppressive effects on immune reactivity, dependent on the properties of the given metal, its environmental concentration, source and duration of exposure. The aim of the present study was to investigate the features of hypersensitivity markers in children under the conditions of external exposure to aluminum. We have conducted a survey of the schoolchildren aged from 7 to 11 y.o. (a mean of 8.82 ± 0.11 years), permanently inhabiting the territory of active industrial exposure associated with environmental contamination with aluminum compounds. The comparison group consisted of children from a “conventionally clean” area, with acceptable parameters of environmental quality. Specific features of sensitization developing to aluminum were evaluated, including both reactive and alternative mediator mechanisms (leukotrienes and prostaglandins), as well as participation of the cytokines in evolving sensitivity to the metal in the *ex vivo* experiments. We have shown a 1.43-fold increased level of metal in peripheral blood of the observation group, than in comparison group (respectively, observation group, 0.020 ± 0.005 $\mu\text{g/ml}$; comparison group 0.014 ± 0.003 $\mu\text{g/ml}$). Enhanced levels of IgE antibodies were found to be 2.13-fold higher compared to the reference values (213.55 ± 88.10 IU/ml against normal rates of < 100.0 IU/ml) accompanied by increased specific IgG antibodies to aluminum (1.55-fold relative to the controls, i.e., 0.157 ± 0.054 cu in observation group versus 0.101 ± 0.041 cu for the comparison group), as well as a 2.09-fold increased spontaneous production of leukotrienes C4/D4/E4 (80.60 ± 19.44 pg/ml for observation group; 38.51 ± 2.40 pg/ml in the comparison group), which was 1.67-fold enhanced by experimental aluminum stimulation. Prostaglandin F2 α levels among the children from observation group were increased 1.9-fold (observation group, 892.62 ± 97.20 pg/ml; comparison group, 457.11 ± 132.99 pg/ml, $p < 0.05$). Under the *ex vivo* experimental conditions, we observed mostly suppressive effects of aluminum upon the cytokine production. E.g., IL-4 production was inhibited by 2.13-fold, as compared with control values (observation group, 0.64 ± 0.23 pg/ml; comparison group, 1.36 ± 0.09 pg/ml); the suppression for IL-17 was 1.90 times (observation group, 1.08 ± 0.27 pg/ml; comparison group, 2.05 ± 0.37 pg/ml, $p < 0.05$). The parameters studied may be used as aluminum hypersensitivity markers and used for monitoring and predictions in public health care.

Keywords: hypersensitivity markers, specific antibodies, leukotrienes, prostaglandins, cytokines, aluminum

Введение

Особенности активации иммунных механизмов, ввиду высокой чувствительности иммунорегуляторных показателей, могут служить индикаторными диагностическими маркерами

состояния здоровья в условиях адаптации организма к техногенно измененной среде обитания [2, 3, 4]. Исследование патогенетических тенденций нарушения иммунной реактивности, ассоциированных с воздействием факторов внешнесредового окружения, прежде всего у дет-

ского населения, позволит обеспечить раннее выявление формирования повышенной чувствительности к компонентам химической нагрузки и повысить эффективность лечебно-профилактических мероприятий.

Металлы, поступающие в среду обитания из промышленных источников, способны воздействовать на систему иммунной регуляции, инициируя как угнетение, так и активацию функциональной активности [1, 5]. Так, негативные проявления экспозиции металлами могут реализовываться в развитии воспалительных, аутоиммунных или аллергических заболеваний. Алюминий также относится к элементам с иммуноотоксичным действием и способен индуцировать аллергические реакции, влияя на клетки иммунной системы, а также на связанные с ними клетки и растворимые медиаторы [8].

Цель работы — исследование особенностей изменения маркеров гиперчувствительности у детей, проживающих в условиях внешнесредового воздействия алюминия. Предполагалось изучить участие реактинового и лейкотриенового механизмов, а также простагландинов в развитии повышенной чувствительности при экспозиции алюминием, исследовать в условиях эксперимента особенности цитокинового компонента иммунной регуляции.

Материалы и методы

Проведено обследование 46 детей в возрасте от 7 до 11 лет (средний возраст $8,82 \pm 0,107$ лет, 41% мальчиков и 59% девочек), постоянно проживающих в г. Братске Иркутской области, в зоне влияния ОАО «Русал Братский алюминиевый завод», предприятия по производству первичного алюминия, глинозема, фтористых солей, деятельность которого сопровождается значительным загрязнением среды обитания. При этом группу сравнения составили 24 ребенка из «условно чистого» района, пос. Листвянка Иркутской области (средний возраст $8,19 \pm 0,111$ лет, 43% мальчиков и 57% девочек). Группы были сопоставимы по полу, возрасту и соматической заболеваемости.

Содержание металлов в биосредах выявляли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в соответствии с МУК 4.1.3230-14 на масс-спектрометре Agilent 7500_{cx} (Agilent Technologies Inc., США). Уровни IgE общего, простагландинов E2 и F2 α исследовали с помощью иммуноферментного анализа на анализаторе ELx808IU (BioTek, США), лейкотриены C4/D4/E4 определяли на основе CAST ELISA (Cellular antigen stimulation test ELISA, Bühlmann

Laboratories AG, Швейцария), специфические антитела к алюминию — методом аллергосорбентного тестирования с ферментной меткой.

Для оценки влияния алюминия на иммунную регуляцию в эксперименте *ex vivo* определяли продукцию цитокинов интерлейкина IL-4, IL-17, интерферона IFN γ в супернатантах клеток цельной крови, используя тест-системы для иммуноферментного анализа АО «Вектор-Бест» (Россия). Для исследования получали образцы периферической крови детей, далее клетки цельной крови культивировали с помощью наборов химических реактивов «Цитокин-стимул» (АО «Вектор-Бест», Россия) в соответствии с инструкцией к набору. Воздействие металла на уровень продукции цитокинов клетками крови исследовали при инкубации проб с раствором алюминия в конечной концентрации 0,01 мг/мл, подобранной экспериментальным путем. Раствор алюминия готовили из «Государственного стандартного образца состава раствора ионов алюминия (III)» ГСО 7927-2001 (ООО «Экохим», Россия).

Статистический анализ полученных данных проводили методом вариационной статистики в пакете прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft, США), рассчитывая среднее арифметическое и его стандартную ошибку ($M \pm m$), по количественным признакам группы сравнивали с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты химико-аналитического исследования биосред детей группы наблюдения показали присутствие алюминия в крови обследованных на уровне, в 1,43 раза превосходящем показатели группы сравнения, при этом доля проб с повышенным содержанием металла составила 24,4% (группа наблюдения $0,020 \pm 0,005$ мкг/мл, группа сравнения $0,014 \pm 0,003$ мкг/мл, $p < 0,05$).

Одновременно у 50,0% обследованных детей отмечено достоверное возрастание общей сенсibilизации по сравнению с возрастной нормой по критерию содержания IgE общего ($213,55 \pm 88,098$ МЕ/мл при норме $< 100,0$ МЕ/мл, $p < 0,05$). Специфическую сенсibilизацию к алюминию оценивали по концентрации специфических антител IgG к алюминию, которая была повышена относительно референтного диапазона в 50,0% случаев ($p < 0,05$) и превосходила уровни в группе сравнения в 1,55 раза (группа наблюдения $0,157 \pm 0,054$ у. е., группа сравнения $0,101 \pm 0,041$ у. е., референтный диапазон

ТАБЛИЦА 1. СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ АЛЮМИНИЕМ ПРОДУКЦИЯ ЛЕЙКОТРИЕНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ EX VIVO (n = 8)

TABLE 1. SPONTANEOUS AND INDUCED BY ALUMINUM PRODUCTION OF LEUKOTRIENES IN THE EX VIVO EXPERIMENT (n = 8)

Показатель Index	Группа наблюдения Observation group	Группа сравнения Comparison group
Спонтанная продукция лейкотриенов C4/D4/E4, пг/мл Spontaneous production of leukotrienes C4/D4/E4, pg/ml	80,60±19,44*	38,510±2,382
Индукцированная алюминием продукция лейкотриенов C4/D4/E4, пг/мл Induced by aluminum production of leukotrienes C4/D4/E4, pg/ml	134,770±29,731*	334,540±26,537

Примечание. * – разница достоверна относительно группы сравнения ($p < 0,05$).

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

ТАБЛИЦА 2. СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ АЛЮМИНИЕМ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ EX VIVO (n = 8)

TABLE 2. SPONTANEOUS AND INDUCED BY ALUMINUM PRODUCTION OF CYTOKINES IN THE EX VIVO EXPERIMENT (n = 8)

Показатель продукции цитокинов Index of cytokine production		Группа наблюдения Observation group	Группа сравнения Comparison group
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	Спонтанная Spontaneous	1,090±0,246	1,340±0,055
	Индукцированная алюминием Induced by aluminum	0,640±0,230*	1,360±0,085
IL-17, пг/мл IL-17, pg/ml	Спонтанная Spontaneous	2,200±0,404	1,640±0,623
	Индукцированная алюминием Induced by aluminum	1,080±0,265*	2,050±0,367
IFNγ, пг/мл IFN γ , pg/ml	Спонтанная Spontaneous	4,650±0,552	4,200±0,942
	Индукцированная алюминием Induced by aluminum	3,800±0,562	2,960±0,913

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

0–0,1 у.е.), различия достоверны по кратностям превышения нормы.

В то же время отмечено повышение уровня спонтанного синтеза неспецифических медиаторов лейкотриенов C4/D4/E4 у детей группы наблюдения в 2,09 раза (табл. 1), при этом превышения референтного значения (< 150 пг/мл) не наблюдалось в обеих группах. Экспериментальное воздействие при антигенной стимуляции клеток алюминием (0,01 мг/мл) приводило к активации высвобождения *de novo* лейкотриенов в группе наблюдения в 1,67 раза, причем данный эффект был значительно более выражен в группе сравнения – в 8,69 раза соответственно ($p < 0,05$).

Уровни провоспалительного медиатора простагландина E2 достоверно не отличались в обеих группах (группа наблюдения $363,85 \pm 85,759$ пг/мл; группа сравнения $462,34 \pm 202,532$ пг/мл), однако показано значительное повышение содержания простагландина F2 α , в среднем в 1,9 раза (группа наблюдения $892,62 \pm 97,222$ пг/мл; группа сравнения $457,11 \pm 132,99$ пг/мл, $p < 0,05$).

Одновременно в эксперименте *ex vivo* проведено исследование продукции межклеточных иммунных медиаторов цитокинов, которое показало преимущественно угнетающие эффекты экспозиции металлом в группе наблюдения в ус-

ловиях предварительной сенсibilизации. Так, при отсутствии достоверных межгрупповых различий изменения уровня IFN γ (табл. 2) наблюдалось достоверное снижение индуцированного алюминием синтеза IL-4 в 2,13 раза относительно группы сравнения ($p < 0,05$). В то же время продукция IL-17 в присутствии металла была снижена в 1,90 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, выполненное исследование особенностей иммунной регуляции у детского населения в условиях промышленного загрязнения алюминием выявило:

- 1) повышенную чувствительность организма по маркерам общей и специфической сенсibilизации (IgE общий, IgG к алюминию);
- 2) возрастание продукции регуляторных медиаторов простагландина F2 α и лейкотриенов C4/D4/E4;
- 3) снижение уровня цитокинпродуцирующей активности (IL-4, IL-17).

Полученные данные указывают на значительные изменения иммунного медиаторного механизма регуляции в условиях экспозиции алюминием, что соответствует существующим представлениям о способности алюминия индуцировать патологическую реактивность иммунной системы, а также оказывать иммуносупрессивное воздействие на функциональное состояние иммунокомпетентных клеток [6, 7]. При этом развитие гиперчувствительности у обследованной группы, связанное с возрастанием уровня специфических антител к алюминию, реализуется также путем активации альтернативного неспецифического лейкотриенового механизма, в то время как в отношении цитокинов проявляются преимущественно ингибирующие эффекты. Исследованные показатели могут использоваться в качестве маркеров нарушений иммунного ответа для оценки влияния алюминия на здоровье и прогнозирования развития заболеваний.

Список литературы / References

1. Долгих О.В., Кривцов А.В., Бубнова О.А., Отавина Е.А., Безрученко Н.В., Колегова А.А., Мазунина А.А., Гусельников М.А. Анализ показателей иммунного статуса у детей в условиях аэрогенной экспозиции металлами // Гигиена и санитария, 2017. Т. 96, № 1. С. 26-29. [Dolgih O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Otavina E.A., Bezruchenko N.V., Kolegova A.A., Mazunina A.A., Guselnikov M.A. Analysis of indicators of immune status in children in conditions of aerogenic exposition with metals. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2017, Vol. 96, no. 1, pp. 26-29. (In Russ.)]
2. Зайцева Н.В., Долгих О.В., Дианова Д.Г. Особенности иммунологических и генетических нарушений человека в условиях дестабилизации среды обитания. Пермь: Издательство Пермского национального исследовательского политехнического университета, 2016. 300 с. [Zaytseva N.V., Dolgikh O.V., Dianova D.G. Immunological and genetic features of human disorders in conditions of environmental destabilization]. Perm: Publishing House of Perm National Research Polytechnic University, 2016. 300 p.
3. 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.
4. MacGillivray D.M., Kollmann T.R. The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, p. 434.
5. 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.
6. Zhu Y., Xu J., Sun H., Hu C., Zhao H., Shao B., Bah A.A., Li Y. Effects of aluminum exposure on the allergic responses and humoral immune function in rats. *Biomaterials*, 2011, Vol. 24, pp. 973-977.
7. She Y., Wang N., Chen C., Zhu Y., Xia S., Hu C., Li Y. Effects of aluminum on immune functions of cultured splenic T and B lymphocytes in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2012, Vol. 147, pp. 246-250.
8. Zhu Y., Li Y., Miao L., Wang Y., Liu Y., Yan X., Cui X., Li H. Immunotoxicity of aluminum. *Chemosphere*, 2014, Vol. 104, pp. 1-6.

Авторы:

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

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

Authors:

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

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

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

Безрученко Н.В. — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии и аллергологии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия

Гусельников М.А. — аспирант 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

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

Bezruchenko N.V., Laboratory Research Assistant, Laboratory of Immunology and Allergology, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

Guselnikov M.A., Postgraduate Student, Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation

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

Поступила 19.12.2017

Отправлена на доработку 21.12.2017

Принята к печати 26.12.2017

Received 19.12.2017

Revision received 21.12.2017

Accepted 26.12.2017