

Читать  
онлайн  
Read  
online

Никоношина Н.А., Долгих О.В.

## Иммунный и нейрогуморальный профиль детского населения, проживающего в условиях экспозиции бенз(а)пиреном

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия

**Введение.** Бенз(а)пирен индуцирует нарушения иммунной и нейрогуморальной регуляции, усугубляющиеся при воздействии неблагоприятных климатогеографических факторов Крайнего Севера. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования особенностей иммунного и нейрогуморального профиля для идентификации маркеров ранних нарушений здоровья населения промышленно развитых приполярных территорий.

**Материалы и методы.** Обследованы 500 детей в возрасте 3–6 лет, проживающих на приполярной территории Восточной Сибири. В группу наблюдения вошли 352 ребёнка, проживающих в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, в группу сравнения — 148 детей, проживающих на условно чистой территории. Определение содержания бенз(а)пирена в крови проводили методом ВЭЖХ. Фенотипирование лимфоцитов CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup> и Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> выполняли методом проточной цитофлуориметрии. Уровни IgA, IgM, IgG определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, содержание IgG к бенз(а)пирену — методом аллгосорбентного тестирования. Содержание ацетилхолина, серотонина, нейротропина-3 определяли методом ИФА.

**Результаты.** У детей, проживающих на промышленно развитой приполярной территории Восточной Сибири, установлен повышенный уровень контаминации крови бенз(а)пиреном ( $p < 0,05$ ). Иммунный профиль характеризуется угнетением клеточного (дефицит CD3<sup>+</sup>) и гуморального иммунитета (снижение IgA, IgM, IgG при избытке CD19<sup>+</sup>). Выявлены нарушения апоптоза (снижение Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup>, Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup>-лимфоцитов; повышение Vcl-2 и CD95<sup>+</sup>;  $p < 0,05$ ). Установлено повышенное содержание IgG к бенз(а)пирену ( $p < 0,05$ ). Нейрогуморальный профиль обследованных детей отличается гиперэкспрессией серотонина при дефиците ацетилхолина и нейротропина-3 ( $p < 0,05$ ).

**Ограничения исследования.** Результаты исследования могут быть использованы специалистами в области гигиены, иммунологии и аллергологии.

**Заключение.** Выявленные особенности иммунного статуса (дефицит CD3<sup>+</sup>, Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> и Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup>-лимфоцитов, IgA, IgM, IgG, избыток CD19<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, Vcl-2, IgG к бенз(а)пирену), сопряжённые с изменениями симпатико-парасимпатического баланса (избыток серотонина, дефицит ацетилхолина, нейротропина-3), характеризуют особенности иммунного и нейрогуморального профиля детского населения приполярных территорий Восточной Сибири в условиях экспозиции бенз(а)пиреном.

**Ключевые слова:** бенз(а)пирен; дети; климатогеографические факторы; иммунитет; нейрогуморальная регуляция

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование выполнено с соблюдением этических требований Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. Исследование одобрено ЛЭК ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 23 от 20.12.2021 г.).

**Согласие пациентов.** Каждый участник исследования (или его законный представитель) дал информированное добровольное письменное согласие на участие в исследовании и публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Гигиена и санитария».

**Для цитирования:** Никоношина Н.А., Долгих О.В. Иммунный и нейрогуморальный профиль детского населения, проживающего в условиях экспозиции бенз(а)пиреном. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(12): 1542-1547. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1542-1547> <https://elibrary.ru/lmmmer>

**Для корреспонденции:** Никоношина Наталья Алексеевна, мл. науч. сотр. лаб. иммунологии и аллергологии, аспирант ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». E-mail: nat08.11@yandex.ru

**Участие авторов:** Никоношина Н.А. — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание и редактирование текста; Долгих О.В. — концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста. *Все соавторы* — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

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

Поступила: 27.10.2022 / Принята к печати: 08.12.2022 / Опубликована: 12.01.2023

Natalya A. Nikonoshina, Oleg V. Dolgikh

## Immune and neurohumoral profile of the children population living in the conditions of exposure to benzo(a)pyrene

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies” of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, 614045, Russian Federation

**Introduction.** Benzo(a)pyrene induces disorders of immune and neurohumoral regulation that are aggravated by the influence of unfavourable climatic and geographical factors in the Far North. In this regard, studies of the features of the immune and neurohumoral profile are of particular relevance for the identification of markers of early health disorders of the population of industrially developed circumpolar territories (using the example of benzo(a)pyrene).

**Materials and methods.** Five hundred 3–6 year children living in the circumpolar territory of Eastern Siberia were examined. Observation group consisted of 352 children living in conditions of exposure to benzo(a)pyrene. Comparison group included 148 children residing at a relatively clean territory. Determination of the content of benzo(a)pyrene in the blood was carried out by HPLC. Phenotyping of CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> and Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup>-lymphocytes was performed by flow cytometry. The level of IgA, IgM, IgG was determined by Mancini radial immunodiffusion, the IgG content to benzo(a)pyrene was determined by allgorsorbent testing. The content of acetylcholine, serotonin, and neurotrophin-3 was determined by ELISA.

**Results.** Children living in the industrially developed circumpolar territory of Eastern Siberia have an increased level of blood contamination with benzo(a)pyrene ( $p < 0.05$ ). The immune profile is characterized by inhibition of cellular (CD3<sup>+</sup> deficiency) and humoral immunity (decreased IgA, IgM,

Original article

IgG with an excess of CD19<sup>+</sup>). Violations of apoptosis (decrease in Annexin V-FITC+7AAD<sup>-</sup>, Annexin V-FITC+7AAD<sup>+</sup>-lymphocytes; increase in Bcl-2 and CD95<sup>+</sup>) were revealed ( $p < 0.05$ ). An increased IgG to benz(a)pyrene content were found ( $p < 0.05$ ). The neurohumoral profile of the examined children is characterized by hyperexpression of serotonin with acetylcholine and neurotrophin-3 deficiency ( $p < 0.05$ ).

**Limitations.** The results of the study are intended for specialists in the field of hygiene, immunology and allergology.

**Conclusion.** Revealed features of the immune status (deficiency of CD3<sup>+</sup>, Annexin V-FITC+7AAD<sup>-</sup>, and Annexin V-FITC+7AAD<sup>+</sup>-lymphocytes IgA, IgM, IgG, excess CD19<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, Bcl-2, IgG to benzo(a)pyrene), associated with changes in sympathetic-parasympathetic balance (excess serotonin, deficiency of acetylcholine, neurotrophin-3) characterize the features of the immune and neurohumoral profile in the children population of the circumpolar territories of Eastern Siberia under the conditions of exposure to benzo(a)pyrene.

**Keywords:** benzo(a)pyrene; children; climatogeographic factors; immunity; neurohumoral regulation

**Compliance with ethical standards.** The study was carried out in compliance with the ethical requirements of the Helsinki Declaration of the WMA 2000 and the Protocol of the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine 1999. The study was approved by the LEC of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being (Protocol No. 23 of 12/20/2021).

**Patient consent.** Each participant of the study (or his/her legal representative) gave informed voluntary written consent to participate in the study and publish personal medical information in an impersonal form in the journal "Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)".

**For citation:** Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V. Immune and neurohumoral profile of the children population in the conditions of exposure to benzo(a)pyrene. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(12): 1542-1547. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1542-1547> <https://elibrary.ru/Immmp> (In Russian)

**For correspondence:** Natalya A. Nikonoshina, postgraduate student at the Laboratory of immunology and allergology, post-graduate student of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: nat08.11@yandex.ru

#### Information about the authors:

Nikonoshina N.A., <https://orcid.org/0000-0001-7271-9477> Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>

**Contribution:** Nikonoshina N.A. – collecting and processing material, statistical processing, writing, and editing text; Dolgikh O.V. – concept and design of research, writing and editing of text. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: October 27, 2022 / Accepted: December 8, 2022 / Published: January 12, 2023

## Введение

Бенз(а)пирен является одним из наиболее распространённых высокотоксичных загрязнителей окружающей среды промышленно развитых территорий, обладает выраженным иммуносупрессивным и канцерогенным действием, подробно описанным в научной литературе. Обладая свойством биоаккумуляции, бенз(а)пирен способен не только оказывать дезадапционное иммунотропное действие, но и реализовать свой нейротоксический потенциал посредством прямого цитотоксического и опосредованного метаболического действия, молекулярные механизмы которого лишь изучаются в настоящее время [1, 2].

Техногенная экспозиция реализуется на фоне определённых климатогеографических условий промышленно развитых территорий, которые могут модулировать степень интенсивности воздействия техногенных факторов и выраженность ответных реакций организма. Известно, что сочетанное воздействие неблагоприятных климатогеографических и техногенных факторов приполярных территорий (низкая температура воздуха, особенности фотопериодизма) обуславливает ранние и более выраженные нарушения состояния здоровья населения даже при низких уровнях загрязнённости атмосферного воздуха, не превышающих значений гигиенических нормативов [3]. При этом дети в большей степени по сравнению со взрослыми подвержены влиянию внешнесредовых факторов различной природы, что обусловлено несовершенством адаптационных и детоксикационных систем организма [4].

Следовательно, изучение иммунного и нейрогуморального профиля детского населения приполярных территорий, проживающего в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, является актуальным для решения задач идентификации индикаторных показателей донозологических дезадапционных изменений организма. Эти данные могут быть использованы в ранней диагностике и профилактике неврологических нарушений, связанных с иммунной системой.

**Цель работы** – изучить особенности иммунного и нейрогуморального профиля детского населения приполярной территории Восточной Сибири в условиях экспозиции бенз(а)пиреном.

## Материалы и методы

Проанализированы особенности микроэлементного состава биосред, а также иммунного и нейрогуморального профиля детского населения приполярной территории Восточной Сибири на уровне 69° с. ш. Всего обследовано 500 детей дошкольного возраста (3–6 лет). В группу наблюдения вошли 352 ребёнка, проживающих в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, в группу сравнения – 148 детей, проживающих на условно чистой территории. Климатогеографические условия территорий проживания, а также половозрастной, этнический и социальный статус обследованных детей в выборках являются сопоставимыми.

Определение уровня контаминации крови бенз(а)пиреном проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Agilent 1200 с флуориметрическим детектором (Agilent Technologies Inc., США) в соответствии с МУК 4.1.3040–12 «Определение массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

Фенотипирование CD3<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>- и CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов, исследование апоптоза и некроза иммунных клеток (Annexin V-FITC+7AAD<sup>-</sup> и Annexin V-FITC+7AAD<sup>+</sup>-лимфоциты), определение уровня экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 проводили методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием универсальной программы CellQuestPro.

Оценку гуморального звена иммунного ответа по критерию продукции сывороточных антител IgA, IgM, IgG проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Определение уровня специфической сенсibilизации к бенз(а)пирену по критерию IgG к бенз(а)пирену выполняли посредством аллергосорбентного теста с ферментной меткой. Уровень продукции факторов нейрогуморальной регуляции (ацетилхолина, серотонина и нейротропина-3) идентифицировали методом ИФА на анализаторе BioTek ELx808 (BioTek Instruments Inc., США).

Исследования были выполнены сотрудниками отдела химико-аналитических методов исследования (зав. отделом доктор биол. наук Нурисламова Т.В.) и отдела иммунобиологических методов диагностики (зав. отделом

Таблица 1 / Table 1

**Иммунный и нейрогуморальный профиль детского населения приполярной территории Восточной Сибири, проживающего в условиях экспозиции бенз(а)пиреном,  $X \pm SE$** **Immune and neurohumoral profile of the children's population living in the conditions of exposure to benzo(a)pyrene in the subpolar territory of the Eastern Siberia,  $X \pm SE$** 

Показатель Indicator	Референтный диапазон [7] Reference range [7]	Группа наблюдения Observation group <i>n</i> = 352	Группа сравнения Comparison group <i>n</i> = 148	<i>p</i>
Annexin V-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>-</sup> -клетки, % Annexin V-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>-</sup> -cells, %	1.5–2.5	0.494 ± 0.114	0.871 ± 0.150	0.049
Annexin V-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>+</sup> -клетки, % Annexin V-FITC <sup>+</sup> 7AAD <sup>+</sup> -cells, %	7–11	4.178 ± 0.565	8.037 ± 1.439	0.015
Bcl-2, %	1–1.5	11.082 ± 0.724*	7.665 ± 0.729*	0.001
CD19 <sup>+</sup> -лимфоциты, % / CD19 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	6–25	16.632 ± 0.733	13.095 ± 1.251	0.017
CD3 <sup>+</sup> -лимфоциты, % / CD3 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	55–84	66.000 ± 1.029	70.429 ± 1.569	0.020
CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> -лимфоциты, % CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> -lymphocytes, %	15–25	26.912 ± 1.013	20.350 ± 2.389	0.014
IgG, г/дм <sup>3</sup> / IgG, g/dm <sup>3</sup>	10.96–16	10.223 ± 0.111	11.406 ± 0.194	0.001
IgM, г/дм <sup>3</sup> / IgM, g/dm <sup>3</sup>	1.3–2.2	1.401 ± 0.019	1.486 ± 0.031	0.020
IgA, г/дм <sup>3</sup> / IgA, g/dm <sup>3</sup>	1.2–2.2	1.220 ± 0.027	1.327 ± 0.042	0.033
IgG к бенз(а)пирену, у.е. / IgG to benzo(a)pyrene, с.у.	0.0–0.1	0.202 ± 0.018*	0.080 ± 0.005	0.001
Ацетилхолин, пг/мл / Acetylcholine, pg/ml	28.4–57.5	27.372 ± 1.651	34.258 ± 2.778	0.001
Серотонин, нг/мл / Serotonin, ng/ml	40–400	184.298 ± 7.727	93.845 ± 8.105	0.001
Нейротропин-3, пг/мл / Neurotrophin-3, pg/ml	5.7–8.2	7.129 ± 0.571	9.670 ± 0.961	0.025

Примечание. \* – различия с референтным уровнем статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Note: \* – differences with reference interval are significant ( $p < 0.05$ ).

доктор мед. наук Долгих О.В.) ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» в 2021 г.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием методов описательной математической статистики и реализована с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Характер распределения данных в обследованных выборках анализировали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Для оценки уровня достоверности различий полученных данных применяли параметрический *t*-критерий Стьюдента в случае нормального распределения данных либо *U*-критерий Манна–Уитни для значений показателей с ненормальным распределением. Результаты исследования представлены в виде среднего арифметического ( $X$ ) и стандартной ошибки ( $SE$ ) значений проанализированных показателей. Для установления причинно-следственной связи между экспозицией бенз(а)пиреном и выявленными ответами организма применяли методику парного регрессионного анализа с расчётом коэффициента детерминации  $R^2$ . Различия между выборками считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

По результатам гигиенической оценки качества атмосферного воздуха на территории промышленного центра приполярной территории Восточной Сибири по критерию содержания бенз(а)пирена установлено его соответствие гигиеническим нормативам (0,6 ПДКсс). Однако результаты верификации расчётов данных и аппроксимации результатов инструментальных исследований в рамках мониторинговых наблюдений и производственного контроля на данной территории указывают на то, что среднегодовые концентрации загрязняющих веществ в точках проживания населения превышают гигиенические нормативы в отношении бенз(а)пирена до 1,4 ПДКсс [5, 6].

Результаты проведённого химико-аналитического исследования биосред детского населения промышленно развитой приполярной территории позволили установить избы-

точность контаминации крови бенз(а)пиреном. Выявленная концентрация бенз(а)пирена в крови детей группы наблюдения ( $0,0024 \pm 0,0008$  мкг/см<sup>3</sup>) достоверно превышает как аналогичные значения данных показателей в группе сравнения ( $0,0011 \pm 0,0008$  мкг/см<sup>3</sup>), так и установленный референтный уровень для данного гаптена (0 мкг/см<sup>3</sup>;  $p < 0,05$ ).

Проведённое клинико-лабораторное обследование детей дошкольного возраста, проживающих на приполярной территории Восточной Сибири в условиях аэрогенной экспозиции бенз(а)пиреном, позволило установить признаки изменения иммунной и нейрогуморальной регуляции на фоне избыточной гаптенной нагрузки (табл. 1).

Клеточный иммунный профиль 76,1% ( $n = 268$ ) детей в группе наблюдения характеризуется достоверным снижением содержания CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ), что указывает на признаки развития клеточного иммунодефицита у детей в условиях приполярной техногенно загрязнённой территории. Формирование клеточной иммуносупрессии сопряжено с нарушениями механизмов запрограммированной гибели иммунных клеток. Снижение процентного содержания некротических Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup>-клеток отмечается у 64,9% ( $n = 228$ ) детей, при этом дефицит Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD-лимфоцитов с признаками раннего апоптоза наблюдается у 78,9% ( $n = 278$ ) детей в группе наблюдения по отношению к группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Угнетение апоптоза лимфоцитов сопровождается повышением уровня антиапоптотического белка Bcl-2 у 64,9% ( $n = 228$ ) детей, в то же время у 48,9% ( $n = 172$ ) детей в группе наблюдения установлено достоверное повышение содержания CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ).

Гуморальный иммунный профиль обследованного детского населения промышленного центра на приполярной территории Восточной Сибири характеризуется угнетением продукции сывороточных антител: установлено снижение IgA у 61% ( $n = 215$ ) детей, IgG – у 71% ( $n = 250$ ) детей, IgM – у 63,9% ( $n = 225$ ) детей относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Снижение уровня IgG и IgM достоверно ассоциировано с повышением уровня контаминации крови обследу-



Таблица 2 / Table 2

Параметры моделей зависимости «маркер экспозиции – маркер эффекта»  
Parameters of the dependence models "exposure marker – effect marker"

Маркер экспозиции Exposure marker	Маркер эффекта Effect marker	Направление изменения показателя Direction of the indicator change	Параметры регрессионной модели Parameters of the regression model		Критерий Фишера Fisher's criterion <i>F</i>	Уровень достоверности различий Confidence level of differences between samples <i>p</i>	Коэффициент детерминации Coefficient of determination <i>R</i> <sup>2</sup>
			<i>b</i> <sub>0</sub>	<i>b</i> <sub>1</sub>			
	IgG	Снижение Decrease	-3.193	-4.908	266.455	0.001	0.379
Бенз(а)пирен Benzo(a)pyrene	IgG к бенз(а)пирену IgG to benzo(a)pyrene	Повышение Increase	-1.845	24.775	3236.91	0.001	0.878
	IgM	Снижение Decrease	-0.605	-26.672	1448.60	0.001	0.762
	Нейротропин-3 Neurotrophin-3	Снижение Decrease	0.397	-63.933	4959.23	0.001	0.918

дованных детей бенз(а)пиреном ( $R^2 = 0,379-0,762$ ;  $p < 0,05$ ). Кроме того, у 73% ( $n = 257$ ) обследованных детей наблюдаются признаки гаптен-специфической сенсибилизации к химическим факторам окружающей среды промышленного центра по критерию IgG к бенз(а)пирену относительно группы сравнения и референтного уровня ( $R^2 = 0,878$ ;  $p < 0,05$ ). Выявленный дефицит общего содержания иммуноглобулинов с одновременным увеличением доли специфических IgG к бенз(а)пирену реализуется на фоне компенсаторного повышения содержания CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов у 56% ( $n = 197$ ) детей в группе наблюдения по отношению к группе сравнения ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Изучение особенностей нейрогуморального профиля детского населения приполярной территории Восточной Сибири, проживающего в условиях экспозиции техногенными факторами (на примере бенз(а)пирена), позволило выявить дисбаланс продукции нейрорегуляторных факторов. Уровень биогенного моноамина серотонина повышен у 81,1% ( $n = 286$ ) обследованных детей относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Экспрессия ацетилхолина достоверно снижена у 82,4% ( $n = 290$ ) детей в группе наблюдения относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Нейрогуморальный профиль 75,3% ( $n = 265$ ) детей характеризуется снижением уровня нейротрофического фактора (нейротропина-3) по отношению к группе сравнения ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Бенз(а)пирен является модельным для изучения ПАУ веществом I класса опасности. Обладает канцерогенным (согласно классификации Международного агентства по изучению рака относится к группе I – подтвержденные канцерогены для человека), мутагенным, тератогенным, эмбриотоксическим, гематотоксическим и иммуносупрессивным свойствами [8].

В настоящем исследовании у детей, проживающих в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, авторами были выявлены признаки угнетения клеточного (дефицит CD3<sup>+</sup>) и гуморального (снижение IgA, IgG, IgM) иммунитета, а также нарушения апоптоза (повышение CD95<sup>+</sup> и Bcl-2), что соотносится с имеющимися данными научной литературы. Так, аналогичное исследование иммунного статуса детского населения, проживающего в условиях многокомпонентной экспозиции химическими факторами, включая бенз(а)пирен, установило снижение содержания CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-клеток на фоне повышения CD127<sup>-</sup> и CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов при гиперэкспрессии белка Bcl-2 [9].

Результаты экспериментальных токсикологических исследований также подтверждают иммунотоксические свойства бенз(а)пирена. Установлено, что бенз(а)пирен воздействует на органы иммунной системы, угнетая раннюю

пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и макрофагов. Показано, что бенз(а)пирен подавляет NF-κB-опосредованное воспаление путём снижения количества NKT-клеток [10]. Реализация иммунотоксического действия бенз(а)пирена сопряжена с его канцерогенным действием, механизм которого запускается при связывании с арилуглеводородным рецептором (AhR) в цитозоле и последующей активации метаболизма с участием ферментов цитохрома P450. Изоформы ферментов CYP1 метаболизируют бенз(а)пирен до бенз(а)пирен-7,8-диол-9,10-эпоксида (BPDE), в то время как AhR как транскрипционный фактор активирует экспрессию генов *CYP1A2*, *CYP1B1* и *CYP1A1*. Далее BPDE ковалентно связывается с ДНК, образуя аддукт ДНК – BPDE-dG, который, нарушая процесс нормальной репликации ДНК, способен индуцировать канцерогенез вследствие мутации гена-супрессора опухолей p53 и других генов регуляции контрольных точек клеточного цикла, угнетая апоптоз и запуская неконтролируемое клеточное деление [11, 12]. В данном исследовании у экспонированных бенз(а)пиреном детей нами также установлены признаки угнетения апоптоза по критерию снижения содержания маркеров раннего (Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup>) и позднего (Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup>) апоптоза и избыточной экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 ( $p < 0,05$ ).

Бенз(а)пирен способен модулировать сигнальные пути Т- и В-лимфоцитов, модулируя активность протеин-тирозинкиназы в лимфоцитах, что нарушает механизм Ca<sup>2+</sup>-зависимой передачи сигналов, последствиями которой может быть стойкое подавление иммунного ответа, сопряжённое с нарушениями механизмов клеточной гибели. Так, развитие Т-хелперной иммунотолерантности может опосредовать снижение продукции IL-2 – ключевого цитокина клеточного и гуморального звена иммунного ответа [13]. При этом развитие бенз(а)пирен-обусловленной иммунотолерантности и иммуносупрессии сопряжено с нарушениями механизмов апоптоза лимфоцитов. Зрелые В-лимфоциты, активированные посредством взаимодействия с Т-хелперными лимфоцитами, восприимчивы к FasL-опосредованному апоптозу. Однако некоторые В-лимфоциты (CD5<sup>+</sup>IgM<sup>high</sup>) конститутивно экспрессируют функциональный Fas-лиганд, обуславливая способность клеток данной субпопуляции индуцировать Fas-опосредованный апоптоз Т-хелперных клеток. Следовательно, важно учитывать, что взаимная индукция Fas-зависимого апоптоза В-лимфоцитов и Th-клеток также может играть решающую роль в формировании иммунной толерантности [14]. Учитывая выявленное избыточное содержание в крови детей, проживающих в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, В-лимфоцитов и маркера CD95<sup>+</sup> (рецептора к Fas-лиганду), можно предположить, что данный феномен имеет место в обследованной выборке.



Иммunosupрессивные свойства бенз(а)пирена реализуются на фоне аллергизации и специфической гиперсенсibilизации. Выявлена роль бенз(а)пирена в развитии аллергии, сопровождаемой гиперпродукцией гистамина, IgE, IL-5, IL-13 и IL-17 в результате Ahg-зависимой активации Т-лимфоцитов [15]. Напротив, Ahg-зависимая активация дендритных клеток блокирует выработку провоспалительных цитокинов Т-клетками, активируя противовоспалительные M2-макрофаги [16]. В данном исследовании у детей, проживающих в условиях экспозиции бенз(а)пиреном, также выявлены признаки специфической гиперсенсibilизации по критерию IgG к бенз(а)пирену ( $p < 0,05$ ).

При этом в значительно меньшей степени раскрыт аспект нейротоксичности бенз(а)пирена. Однако известно, что бенз(а)пирен как липофильное соединение легко проникает через гематоэнцефалический барьер и поступает в ЦНС. При избыточной экспозиции бенз(а)пирен и его метаболиты могут накапливаться в головном мозге, вызывая снижение краткосрочной и долговременной пространственной памяти вследствие воздействия оксидативного стресса на гиппокамп, гипоталамус, стриатум, миндалевидное тело и префронтальную кору [17]. Нейротоксические свойства бенз(а)пирена связаны преимущественно с модулированием экспрессии генов нейротрансмиттеров, их непосредственной продукции и рецепторного сигнала. Реализация нейротоксического действия бенз(а)пирена связана со снижением уровня экспрессии рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDARs) – ионотропных глутаматных рецепторов, необходимых для развития нейронов, синаптической пластичности, выполнения когнитивных функций и выживания клеток. Известно, что пренатальная экспозиция бенз(а)пиреном мышей *in vivo* индуцирует снижение синаптической пластичности и долгосрочного потенцирования (LTP) как механизмов формирования памяти, нарушения функции кортикальных нейронов, а также угнетение способности к обучению у потомства, ассоциированные со снижением уровня экспрессии гена *NR2B*-субъединицы. Изменения в краткосрочной памяти ассоциированы с угнетением активности NADPH CYP450-редуктазы [18]. Однако точные механизмы реализации нейротоксического действия бенз(а)пирена до сих пор остаются неясными.

Нейрогуморальный профиль обследованных детей, проживающих на приполярной территории с экспозицией бенз(а)пиреном, характеризуется избыточным уровнем продукции серотонина на фоне дефицита ацетилхолина и нейротропина-3. В литературе имеются данные о том, что бенз(а)пирен способен оказывать влияние на продукцию нейротрансмиттеров. Известно, что хроническая экспозиция бенз(а)пиреном обуславливает повышение уровня дофамина и серотонина и снижение продукции норадреналина и ацетилхолина, нарушая процесс передачи нервного импульса [2].

Бенз(а)пирен повышает уровень серотонина преимущественно путём угнетения механизмов его обратного захвата, тем самым усугубляя нарушения нейрогуморальной регуляции в результате бенз(а)пирен-индуцированного оксидативного стресса. Избыточная активация постсинаптического возбуждения рецепторов 5-HT<sub>2A</sub> и 5-HT<sub>1A</sub>. При этом избыточная продукция серотонина может являться защитным механизмом в ответ на оксидативный стресс. Серотонин индуцирует синтез эндогенной дистонин-β-синтетазы, угнетающей процесс образования активных форм кислорода, снижает активность клеточных лизосомальных гидролаз, ингибирует апоптоз путём активации ERK1 и ERK2-киназ, регулирует синтез РНК и ДНК, реализуя цитопротекторную функцию [19].

Ацетилхолин – нейромедиатор, осуществляющий синаптическую передачу нервного возбуждения в ЦНС, вегетативных ганглиях, окончаниях парасимпатических и дви-

гательных нервов. Дефицит ацетилхолина нарушает процесс трансформации кратковременной памяти в долговременную за счёт ингибирования интеркуррентных стимулов. При нарушении холинергической иннервации возникает снижение чувствительности нейронов и, как следствие, нарушение целостности полученной информации [20]. Функциональная активность холинергической системы сопряжена не только с уровнем продукции ацетилхолина, но и с содержанием фермента его метаболизма – ацетилхолинэстеразы. Ингибирование ацетилхолинэстеразы на фоне дефицита ацетилхолина является маркерным показателем нейротоксичности, вызванной загрязнением окружающей среды. Снижение активности ацетилхолинэстеразы может ограничить гидролиз ацетилхолина, привести к нарушению передачи нервного импульса и нейрональному апоптозу [21].

Нейротропин-3 (NT-3) играет важную роль в выживании нейронов, регулируя их трофику и пластичность. Данный регуляторный фактор участвует и в адаптивном нейрогенезе – ремоделировании нейронных сетей вследствие трансформирующего влияния внешней среды. Снижение NT-3 обуславливает развитие нейровоспалительных реакций, угнетение ревазуляризации и нейрогенеза, а также активирует инфильтрацию макрофагов с угнетением микроглии в области локального поражения тканей, активирует экспрессию IL-1β и TNF-α и снижает уровень IL-10 и IL-4 [22].

## Заключение

В результате химико-аналитического исследования биосред детей дошкольного возраста, проживающих на промышленно развитой приполярной территории Восточной Сибири в условиях экспозиции бенз(а)пиреном на уровне, не превышающем гигиенических нормативов, установлен повышенный уровень контаминации крови бенз(а)пиреном ( $p < 0,05$ ).

Иммунный профиль обследованных детей характеризуется угнетением клеточного (дефицит CD3<sup>+</sup>) и гуморального (снижение уровня IgA, IgM, IgG) иммунитета, что подтверждает иммуносупрессивные свойства бенз(а)пирена. Выявленные признаки нарушения механизмов клеточной гибели (снижение Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> и Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup>-лимфоцитов при повышении уровня Bcl-2) указывают на признаки возможного угнетения p53-зависимого апоптоза и риска развития злокачественных опухолей в дальнейшем. Установленное сочетанное повышение В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) и Fas-рецептора (CD95<sup>+</sup>) может обуславливать Fas-зависимый апоптоз В-лимфоцитов и Тh-клеток и играть важную роль в формировании иммунной толерантности. Избыток IgG к бенз(а)пирену указывает на развитие специфической сенсibilизации к аэрогенному гаптену ( $p < 0,05$ ).

Нейрогуморальный профиль обследованных детей отличается избыточным уровнем продукции серотонина на фоне дефицита ацетилхолина и нейротропина-3 ( $p < 0,05$ ), демонстрируя признаки нарушения синаптической передачи нервного импульса и угнетения нейротрофики и вторичного нейрогенеза в условиях окислительного стресса на фоне экспозиции бенз(а)пиреном.

Таким образом, выявленные изменения иммунной регуляции, выраженной снижением CD3<sup>+</sup>, Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> и Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>+</sup>-клеток на фоне повышения CD19<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, Bcl-2, IgG к бенз(а)пирену, и нервной регуляции, проявляющейся в избыточном содержании серотонина на фоне снижения продукции ацетилхолина, нейротропина-3, характеризуют особенности иммунного и нейрогуморального профиля детского населения приполярной территории Восточной Сибири, проживающего в условиях экспозиции бенз(а)пиреном. Полученные результаты могут быть использованы для ранней диагностики и профилактики нарушений здоровья, ассоциированных с комбинированным влиянием техногенных и климатических факторов.

## Литература

(п.п. 1, 2, 8, 10–17, 19–22 см. References)

3. Карпин В.А., Гудков А.Б., Шувалова О.И. Анализ воздействия климатотехногенного прессинга на жителей северной урбанизированной территории. *Экология человека*. 2018; (10): 9–14. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-10-9-14>
4. Сетко Н.П., Сетко А.Г., Булычева Е.В. *Адаптационная медицина детей и подростков*. Оренбург; 2017.
5. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018 году». М.; 2019.
6. Состояние загрязнения атмосферы в городах на территории России за 2017 г.: Ежегодник. СПб.; 2018.
7. Ву А.Х.Б., ред. *Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам*. Пер. с англ. М.: Лабора; 2013.
9. Долгих О.В., Старкова К.Г., Аликина И.Н., Челакова Ю.А., Гусельников М.А., Никоншина Н.А. Маркеры иммунной регуляции у детей в условиях экспозиции алюминием. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2019; (1): 96–100. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2019-1-96-100>
18. Шур В.Ю., Самотруева М.А., Мажитова М.В., Тризно Н.Н., Файзиев Р.М., Петренко Л.В. и др. Серотонин: биологические свойства и перспективы клинического применения. *Фундаментальные исследования*. 2014; (7–3): 621–9.

## References

1. McCann M.S., Maguire-Zeiss K.A. Environmental toxicants in the brain: A review of astrocytic metabolic dysfunction. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2021; 84: 103608. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103608>
2. Das S.K., Patel B., Patri M. Neurotoxic effect of benzo[a]pyrene and its possible association with 6-hydroxydopamine induced neurobehavioral changes during early adolescence period in rats. *J. Toxicol.* 2016; 2016: 8606410. <https://doi.org/10.1155/2016/8606410>
3. Карпин В.А., Гудков А.Б., Шувалова О.И. Impact analysis of climate and technogeneous pressing on residents of Northern urban land. *Ekologiya cheloveka*. 2018; (10): 9–14. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-10-9-14> (in Russian)
4. Setko N.P., Setko A.G., Bulycheva E.V. *Adaptive Medicine of Children and Adolescents [Adaptatsionnaya meditsina detey i podrostkov]*. Orenburg; 2017. (in Russian)
5. State Report «On the state and environmental protection of the Russian Federation in 2018». Moscow; 2019. (in Russian)
6. The state of atmospheric pollution in cities in Russia for 2017: Yearbook. St. Petersburg; 2018. (in Russian)
7. Tietz N.W. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1995.
8. Chang Y., Siddens L.K., Heine L.K., Sampson D.A., Yu Z., Fischer K.A., et al. Comparative mechanisms of PAH toxicity by benzo[a]pyrene and dibenzo[def,p]chrysene in primary human bronchial epithelial cells cultured at air-liquid interface. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2019; 379: 114644. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114644>
9. Dolgikh O.V., Starkova K.G., Alikina I.N., Chelakova Yu.A., Gusel'nikov M.A., Nikonoshina N.A. Markers of immune regulation in children exposed to aluminum. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2019; (1): 96–100. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2019-1-96-100> (in Russian)
10. Abd El-Fattah E.E., Abdelhamid A.M. Benzo[a]pyrene immunogenetics and immune archetype reprogramming of lung. *Toxicology*. 2021; 463: 152994. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152994>
11. Shiizaki K., Kawanishi M., Yagi T. Modulation of benzo[a]pyrene-DNA adduct formation by CYP1 inducer and inhibitor. *Genes Environ.* 2017; 39: 14. <https://doi.org/10.1186/s41021-017-0076-x>
12. Salem M.L., El-Ashmawy N.E., Abd El-Fattah E.E., Khedr E.G. Immunosuppressive role of Benzo[a]pyrene in induction of lung cancer in mice. *Chem. Biol. Interact.* 2021; 333: 109330. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109330>
13. Lundy S.K., Klinker M.W., Fox D.A. Killer B lymphocytes and their Fas ligand positive exosomes as inducers of immune tolerance. *Front. Immunol.* 2015; 6: 122. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00122>
14. Choi H., Song W.M., Wang M., Sram R.J., Zhang B. Benzo[a]pyrene is associated with dysregulated myelo-lymphoid hematopoiesis in asthmatic children. *Environ. Int.* 2019; 128: 218–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.052>
15. Bankoti J., Rase B., Simones T., Shepherd D.M. Functional and phenotypic effects of AhR activation in inflammatory dendritic cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 246(1–2): 18–28. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.03.013>
16. Qiu C., Peng B., Cheng S., Xia Y., Tu B. The effect of occupational exposure to benzo[a]pyrene on neurobehavioral function in coke oven workers. *Am. J. Ind. Med.* 2013; 56(3): 347–55. <https://doi.org/10.1002/ajim.22119>
17. Valdivielso J.M., Eritja A., Caus M., Bozic M. Glutamate-gated NMDA receptors: insights into the function and signaling in the kidney. *Biomolecules*. 2020; 10(7): 1051. <https://doi.org/10.3390/biom10071051>
18. Shur V.Yu., Samotruева M.A., Mazhitova M.V., Trizno N.N., Fayziev R.M., Petrenko L.V., et al. Serotonin: biological properties and prospects of clinical application. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; (7–3): 621–9. (in Russian)
19. Talaei F., Bouma H.R., Van der Graaf A.C., Strijkstra A.M., Schmidt M., Henning R.H. Serotonin and dopamine protect from hypothermia rewarming damage through the CBS/H2S pathway. *PLoS One*. 2011; 6(7): e22568. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022568>
20. Guo B., Feng D., Xu Z., Qi P., Yan X. Acute benzo[a]pyrene exposure induced oxidative stress, neurotoxicity and epigenetic change in blood clam *Tegillarca granosa*. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 18744. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98354-5>
21. Maisano M., Cappello T., Natalotto A., Vitale V., Vincenzo P., Giannetto A., et al. Effects of petrochemical contamination on caged marine mussels using a multi-biomarker approach: Histological changes, neurotoxicity and hypoxic stress. *Mar. Environ. Res.* 2017; 128: 114–23. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.03.008>
22. De Miranda A.S., de Barros J.L.V.M., Teixeira L.A. Is neurotrophin-3 (NT-3): a potential therapeutic target for depression and anxiety? *Expert Opin. Ther. Targets*. 2020; 24(12): 1225–38. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1846720>