

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 614.876:612.014.1-053.2

Дианова Д.Г.¹, Долгих О.В.¹, Кривцов А.В.¹, Сеницына О.О.², Отавина Е.А.¹**ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ СТРОНЦIEВОЙ ГЕОХИМИЧЕСКОЙ ПРОВИНЦИИ**¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь;²«Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва

Проведено изучение особенностей клеточной гибели у детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием стабильного стронция природного происхождения. Процент нестандартных проб содержания стронция в воде на территории наблюдения составил 16,7 %, что соответствовало превышению предельно допустимой концентрации стронция в питьевой воде на уровне 1,2 ПДК (до 8,4 мг/л). Установлено, что в крови детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, статистически значимо ($p = 0,02$) в 3,57 раза повышено содержание стронция ($0,1 \text{ мг/дм}^3$) по сравнению с результатами, полученными у детей, проживающих на территории относительно санитарно-гигиенического благополучия ($0,028 \text{ мг/дм}^3$). Проведена оценка параметров зависимости «концентрация стронция в питьевой воде – концентрация стронция в крови», получена достоверная зависимость ($b_0 = 0,04$; $b_1 = 0,012$; $R^2 = 0,44$; $F = 310$; $p = 0,00001$) повышения в 1,3 раза содержания стронция в крови относительно референтного уровня от концентрации стронция в воде. Установлено, что в диапазоне экспозиции $7,84 \pm 0,62 \text{ мг/л}$ на 1 мг/л повышения стронция в воде, его концентрация в крови возрастает на $0,012 \text{ мг/дм}^3$. Методом проточной цитометрии установлено, что у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, статистически значимо ($p = 0,04 - 0,001$) в 1,5 – 3,8 раза снижено количество $CD95^+$ -лимфоцитов (по относительной и абсолютной величине), экспрессия $p53$, $bcl-2$, bax и количество Annexin V-FITC+PI⁻ клеток, погибающих по пути апоптоза, а также статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,5 раз повышено содержание Annexin V-FITC+PI⁺ клеток, погибающих по пути некроза, по сравнению с группой контроля. Полученные результаты доказывают, что длительное избыточное воздействие на детский организм стабильного стронция, поступающего с питьевой водой, приводит к изменениям функционирования иммунной системы, характеризующимся нарушением регуляции клеточной гибели – ингибированию апоптоза и активации некроза. Установлены соответствующие диапазонам значений стронция в крови на уровне $0,1 [0,04 - 0,11] \text{ мг/дм}^3$ диапазоны показателей апоптотической регуляции (относительное содержание, %): $CD95^+ - 17,50 [15,48; 22,03]$, $p53 - 0,53 [0,22; 0,98]$, $bcl-2 - 0,24 [0,21; 0,36]$, $bax - 5,66 [4,67; 7,84]$, AnnexinV-FITC+PI⁻ клетки $-0,67 [0,56; 0,88]$, AnnexinV-FITC+PI⁺ клетки $- 10,58 [9,54; 16,11]$. Показатели апоптотической регуляции $CD95^+$, $p53$, $bcl-2$, Annexin V-FITC+PI⁻ рекомендуется использовать в качестве индикаторных показателей ранних нарушений иммунного статуса, а также для мониторинга эффективности профилактических мероприятий на территориях стронциевых геохимических провинций.

Ключевые слова: стабильный стронций; нестандартные пробы; питьевая вода; иммунный статус; апоптоз.

Для цитирования: Дианова Д.Г., Долгих О.В., Кривцов А.В., Сеницына О.О., Отавина Е.А. Особенности регуляции иммунной системы у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции. Гигиена и санитария. 2017; 97(1): 25-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-1-25-28>

Для корреспонденции: Долгих Олег Владимирович, д-р мед. наук, зав. отд. иммунобиологических методов диагностики, ФБУН Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения. E-mail: oleg@fcrisk.ru

Dianova D.G.¹, Dolgikh O.V.¹, Krivtsov A.V.¹, Sinityna O.O.², Otavina E.A.¹**PECULIARITIES OF THE REGULATION OF THE IMMUNE SYSTEM IN CHILDREN RESIDING IN CONDITIONS OF STRONTIUM GEOCHEMICAL PROVINCE**¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation;²Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation

There was made a study of the features of apoptosis in children drinking potable water with an increased content of stable strontium of natural origin. The percentage of non-standard samples of strontium content in the water on the observation territory was 16.7%, which corresponded to the exceedance of the maximum permissible concentration of strontium in drinking water at the level of 1.2 MPC (up to 8.4 mg/l). In children living in the strontium geochemical province, the blood content of strontium (0.1 mg/dm^3) was established statistically significant higher ($p = 0.02$) in comparison with the results obtained from children living in the territory of relative sanitary and hygienic well-being (0.028 mg/dm^3). There was made an estimation of parameters of the dependence between the concentration of strontium in drinking water and the concentration of strontium in the blood was estimated, there was obtained a reliable dependence ($b_0 = 0.04$, $b_1 = 0.012$, $R_2 = 0.44$, $F = 310$, $p = 0.00001$) of the increase in the blood content of strontium by the 1.3 times relative to the reference level from the concentration of strontium in water. In the exposure range of $7.84 \pm 0.62 \text{ mg/L}$ per 1 mg/L increase in strontium in water, its concentration in the blood was established to increase by 0.012 mg/dm^3 . In children living in the strontium geochemical province (1.5-0.8 times) by the method of flow cytometry, there were established to statistically significant decline the (relative and absolute values) number of $CD95^+$ lymphocytes ($p = 0.04-0.001$) by 3.8 times, the expression of $p53$, $bcl-2$, Bax and the amount of Annexin V-FITC+PI⁻ cells dying via the path of apoptosis, as well as the content of Annexin V-FITC+PI⁺ cells, dying via necrosis was statistically significantly ($p = 0.001$) elevated, in comparison with the control group. The obtained results

prove the prolonged excessive effect on the children's organism of stable strontium supplied with drinking water to lead to changes in the functioning of the immune system, characterized by a violation of the regulation of cell death - inhibition of apoptosis and activation of necrosis. The ranges of values of strontium in the blood corresponding to the ranges of 0.1 [0.04-0.11] mg/dm³ are given in the ranges of apoptotic regulation (relative content,%): CD95⁺ - 17.50 [15.48; 22.03], p53 - 0.53 [0.22; 0.98], bcl-2 0.24 [0.21; 0.36], bax = 5.66 [4.67; 7.84], AnnexinV-FITC⁺PI⁺ cells: 0.67 [0.56; 0.88], AnnexinV-FITC⁺PI⁺ cells: 10.58 [9.54; 16.11]. The indices of apoptotic regulation of CD95⁺, p53, bcl-2, Annexin V-FITC⁺PI⁺ are recommended to be used as indices of early disorders of the immune status, and also for the monitoring the effectiveness of preventive measures in the territories of strontium geochemical provinces.

Key words: *stable strontium; non-standard samples; drinking water; immune status; apoptosis.*

For citation: Dianova D.G., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Sinityna O.O., Otavina E.A. Peculiarities of the regulation of the immune system in children residing in conditions of strontium geochemical province. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(1): 25-28. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-1-25-28>

For correspondence: Oleg V. Dolgikh, MD, PhD, DSci., Professor, Head of Department of immunobiological diagnostic methods, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation; Perm State National Research University, Perm, 614990, Russian Federation; Perm State National Research Polytechnic University, Perm, 614990, Russian Federation. E-mail: oleg@fcrisk.ru

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: 15 September 2017

Accepted: 25 December 2017

Одной из причин ухудшения качества питьевой воды являются факторы природного характера, связанные с гидрохимическими особенностями подземных вод, в т. ч. характеризующимися повышенным природным содержанием в питьевых водах стабильного стронция [1]. Наибольшее опасение вызывают изменения качества питьевой воды, её несоответствие санитарно-гигиеническим требованиям, что может вызвать серьёзные последствия потребления недоброкачественной питьевой воды для здоровья населения [2]. Регуляторная функция иммунной системы обеспечивает адекватное приспособление организма к определённым условиям среды обитания, в том числе и к качеству подаваемой питьевой воды из источников централизованного водоснабжения [3]. Детский организм в силу возрастных характеристик адаптационных механизмов и анатомофизиологических особенностей является наиболее чувствительным к воздействию неблагоприятных факторов среды. Доказана связь между хроническим воздействием химических соединений, содержание которых в питьевой воде превышает действующие нормативы, и возникновением иммунной дисфункции, увеличением риска развития иммуноассоциированных заболеваний у детей, причинами которых часто являются нарушения регуляции клеточной гибели [4]. В последнее десятилетие возникла проблема воздействия стабильного стронция на здоровье в связи с вовлечением в питьевое водоснабжение больших объёмов артезианской воды водоносных горизонтов, где содержание стабильного стронция в 2–5 раз превышает предельно-допустимое – 7 мг/л. Стронций, будучи изоформен кальцию и обладая высокой подвижностью, способен блокировать ионные каналы для последнего, воздействовать на кальций-зависимые рецепторы и конкурировать за активные участки белков, не выполняя физиологической функции, что может определить модифицирующее влияние стронция на иммунную регуляцию, в том числе на изменение иммунной реактивности организма.

Безусловно, актуальным является выявление характера и степени иммунных расстройств, сопряженных с клеточной гибелью, у детского населения в зависимости от уровня избыточной нагрузки стронцием воды хозяйственно-питьевого водоснабжения.

Цель работы – изучение особенностей апоптотической регуляции иммунной системы у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, для установления индикаторных показателей ранних нарушений клеточной гибели, отражающих изменения иммунного статуса, ассоциированные с экспозицией стронцием.

Материал и методы

Диагностические исследования выполнены в соответствии с обязательным соблюдением этических принципов медико-биологических исследований, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. с дополнениями 1983 г. Исследование одобрено

Этическим комитетом Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения. Всего, включая группу контроля, обследовано 182 человека. Группа наблюдения – 85 человек, постоянно проживающих на территории стронциевой геохимической провинции (территория наблюдения). Группа контроля – 97 человек, проживающих на территории относительного санитарно-гигиенического благополучия и потребляющих питьевую воду удовлетворительного качества (контрольная территория).

Оценка качества питьевой воды проведена по данным собственных исследований, мониторинговых и натуральных наблюдений ГУ «Пермский ЦГМС» и Территориального Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю (по 15 загрязняющим примесям в воде). Информация обобщена в соответствии ГН 2.1.5.1315-03, СанПиН 2.1.4.1074-01.

Оценка содержания химических элементов (стронций) в биосредах (кровь) проводилась методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе Agilent 7500 сx в соответствии с требованиями МУК 4.1.3230-14.

Фенотипирование лимфоцитов, идентификацию мембранных маркеров апоптоза проводили на проточном цитометре FACSCalibur с использованием универсальной программы CellQuestPro. Определение субпопуляций лимфоцитов (CD95⁺ (FAS)) проводили методом мембранной иммуофлюоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител (МКАТ) к мембранным CD-рецепторам. Определение внутриклеточного маркера апоптоза – p53-протеина – проводилось с помощью МКАТ против белка p53, конъюгированные с PE. Для анализа использовали суспензию мононуклеарных клеток периферической крови, выделенных путём центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина [5]. Клетки окрашивали стандартными МКАТ, согласно протоколу фирмы-производителя («BC»). Уровень экспрессии белка bcl-2, bax определяли с использованием соответствующих МКАТ и одновременным проведением процедуры отрицательного изотипического контроля. Для определения количества апоптотических клеток использовали суспензию мононуклеарных клеток периферической крови, выделенных центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина [5]. Уровень апоптоза лимфоцитов определяли с помощью окрашивания аннексином V-FITC (Annexin V-FITC) и пропидиум йодидом (PI) согласно протоколу фирмы-производителя («BD»). Annexin V-FITC⁺PI⁻ – ранний апоптоз (обратимый), Annexin V-FITC⁺PI⁺ – поздний апоптоз (необратимый) и некроз [6].

Для установления реперных (недействующих) концентраций стронция в крови выполнена разработка математических моделей, отражающих зависимость «вероятность отклонения – маркер экспозиции» [11]. Оценку параметров зависимости проводили методом построения логистической регрессионной модели в виде экспоненциальной функции [8].

Таблица 1

Химический анализ питьевой воды и биосред детей, проживающих на обследуемой территории ($M \pm \sigma$; Me; [CI])

Территория	Концентрация стронция в питьевой воде	
	Стронций, ПДК = 7,0 мг/л	
	среднее значение, мг/л	доли ПДК
Контрольная территория	0,71 ± 0,06	0,11
Территория наблюдения	7,84 ± 0,62	1,2

Показатель	Концентрация стронция в крови, мг/дм ³	
	Контрольная группа (n = 97)	Группа наблюдения (n = 85)
Референтные значения	0,01–0,08 [12]	
Медиана	0,028 [0,02–0,04]	0,10 [0,04–0,11], $p^1 < 0,05$, $p = 0,02$

Примечание. p^1 – различие с верхней границей диапазона референтных значений; p – различие между контрольной группой и группой наблюдения по U-критерию Манна–Уитни.

Оценка зависимости концентрации стронция в крови от концентрации стронция в питьевой воде выполняли с помощью парных моделей регрессии с оценкой достоверности и адекватности модели на основании однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера ($F \geq 3,96$), коэффициенту детерминации (R^2) и t -критерию Стьюдента ($t \geq 2$) при заданном уровне значимости $p \leq 0,05$. При построении математических моделей определяли 95%-ные доверительные границы. При установлении адекватной модели, отражающей исследуемую зависимость, концентрации стронция в крови принимали в качестве маркера водной экспозиции стронцием.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0. Для оценки значимости межгрупповых различий использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Результаты представлены в виде медианы (Me) и доверительного интервала (CI); средняя арифметическая (M), среднее квадратическое отклонение (σ). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывался достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты

При оценке качества хозяйственно-питьевого водоснабжения идентифицированы превышения предельно-допустимых концентраций (ПДК) по стронцию в пробах воды, отобранных на территории наблюдения. Процент нестандартных проб по содержанию стронция в воде составил 16,7%. Максимальная концентрация стронция в питьевой воде составила 8,4 мг/л (1,2 ПДК) (табл. 1).

Содержание стронция в водопроводной воде на контрольной территории не превышает ПДК. В ходе сопоставительного анализа результатов исследований установлено, что кратность превышения по стронцию в пробах воды относительно контрольной территории составляет до 10,9 раз. Установлено, что у детей группы наблюдения в крови статистически значимо ($p < 0,05$) в 1,3 раза повышено относительно верхней границы диапазона референтных значений и статистически значимо ($p = 0,020$) в 3 раза повышено относительно значений, полученных у детей группы контроля.

Выявление и оценка параметров зависимости «концентрация стронция в питьевой воде – концентрация стронция в крови» позволили получить адекватную ($F \geq 3,96$; $p \leq 0,05$) модель ($R^2 = 0,44$; $F = 310$; $p = 0,00001$), описываемую уравнением вида: $y = 0,04 + 0,012x$ (рис. 1). Установлено, что на 1 мкг/л повышения стронция в воде, его концентрация в крови возрастает на 0,012 мг/дм³. На основании полученной достоверной зависимости повышенное содержание стронция в крови относительно референтного уровня обосновано в качестве маркера хронической пероральной экспозиции при поступлении с питьевой водой.

Таблица 2

Показатели апоптоза у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, (Me; [CI])

Показатель	Физиологическая норма	Группа контроля (n = 97)	Группа наблюдения (n = 85)	p	p^1
CD95+, %	15–25	24,00 [22,02; 25,03]	17,50 [15,48; 22,03]	0,001	> 0,05
CD95+, 10 ⁹ /дм ³	0,4–0,7	0,63 [0,61; 0,71]	0,43 [0,37; 0,61]	0,001	> 0,05
p53, %	1,2–1,8	2,03 [1,75; 3,68]	0,53 [0,22; 0,98]	0,001	< 0,05
bcl-2, %	0,5–1,5	0,40 [0,20; 0,93]	0,24 [0,21; 0,36]	0,042	< 0,05
bax, %	5–9	9,00 [8,22; 9,02]	5,66 [4,67; 7,84]	0,001	> 0,05
Annexin V-FITC+PI-, %	1,5–2,5	1,49 [1,34; 1,78]	0,67 [0,56; 0,88]	0,001	< 0,05
Annexin V-FITC+PI+, %	7–11	6,98 [6,65; 8,86]	10,58 [9,54; 16,11]	0,001	> 0,05

Примечание. p – различие между контрольной группой и группой наблюдения по критерию U-критерию Манна – Уитни; p^1 – различие между физиологической нормой и группой наблюдения по U-критерию Манна – Уитни.

Цитофлюориметрический анализ показателей апоптоза показал, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,001$) в 1,4 раза снижено процентное содержание CD95+ клеток и в 1,5 раза абсолютное число CD95+ лимфоцитов по сравнению с величинами, идентифицированными у обследуемых контрольной группы (табл. 2).

Установлено, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,001$) в 3,8 раза реже определяется белок p53, чем у детей группы контроля. Оценка содержания белков семейства BCL-2 выявила, что у детей группы наблюдения экспрессия bcl-2 и bax статистически значимо ($p = 0,001–0,042$) ниже значений, полученных у детей контрольной группы. Кратность снижения относительно контрольных значений для bcl-2 составила 1,7 раза, для bax – 1,6 раза. Обнаружено, что у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, статистически значимо ($p = 0,001$) в 2,2 раза снижено количество Annexin V-FITC+PI- клеток по сравнению с величинами, выявленными у детей, проживающих на контрольной территории. Анализ показателей иммунограммы продемонстрировал, что у детей группы наблюдения количество Annexin V-FITC+PI+ клеток статистически значимо ($p = 0,001$) превышает значения, полученные у детей контрольной группы. Кратность превышения относительно контрольных значений для Annexin V-FITC+PI+ клеток составила 1,5 раза. Установлено, что у детей группы наблюдения экспрессия bcl-2 и p53, а также содержание клеток, вступивших в раннюю стадию апоптоза (Annexin V-FITC+PI- клеток), статистически значимо ($p < 0,05$) ниже физиологической нормы.

Обсуждение

Различные химические вещества могут вызывать нарушения функций организма, проявляющиеся неадекватными иммунными реакциями, в частности, нарушение регуляции процесса запрограммированной гибели клетки – апоптоза [7]. Апоптоз заканчивается фагоцитозом без последствий для окружающей ткани в виде альтерации, воспаления и иммунного ответа. Гибель клетки путём некроза всегда сопровождается развитием альтерации окружающих клеток и воспаления, а фагоцитоз остатков погибших клеток – развитием полноценного иммунного ответа, если в них имеются антигены. Это имеет колоссальное значение для патологии [9].

На основе построения математических моделей предложены реперные (недействующие) уровни содержания в крови стронция по влиянию на клеточную гибель. Установлены причинно-

следственные связи между содержанием стронция в биосредах и показателями апоптоза CD95, p53, AnnV-FITC⁺PI⁻-клеток ($a = 0,9 - 2,0$; $b = -8,1 - -22,5$; $R^2 = 0,40 - 0,80$; $F = 124,3 - 2305$; $p < 0,05$), описывающие статистически значимую вероятность снижения показателей, характеризующих иммунный ответ, а также между стронцием и AnnV-FITC⁺PI⁺-клеток с достоверной вероятностью их повышения ($a = 0,19$; $b = 3,0$; $R^2 = 0,80$; $F = 1131$; $p < 0,05$), что подтверждает гаптеносредованное угнетение процессов иммунорегуляции и ингибирование рецептор-зависимого апоптогенного сигнала в клетке. На основе построения математических моделей, описывающих значимые причинно-следственные связи, «химический фактор в крови – маркер эффекта», обоснованы недействующие уровни содержания стронция в крови. Для стронция реперный уровень по критерию снижения CD95⁺-клеток составил 0,061 мг/дм³, по критерию снижения p53 – 0,055 мг/дм³, в качестве лимитирующего по критерию снижения содержания AnnexinV-FITC⁺PI⁻-лимфоцитов – 0,052 мг/дм³.

Система FAS / FASL является одним из наиболее значимых механизмов, регулирующих индукцию апоптоза. Во взаимодействии FAS и FASL важно для таких типов физиологической регуляции, как уничтожение зрелых Т-лимфоцитов на завершающих стадиях иммунного ответа, киллинг опухолевых или инфицированных вирусом клеток цитотоксическими лимфоцитами и NK-клетками [10]. Установлено, что одним из решающих моментов в запуске апоптоза является гетеродимеризация белков семейства Bcl-2 – индукторов (bax, bak, bok) и ингибиторов апоптоза (bcl-2, bcl-xl, bcl-w, Mcl-1, A-1). Снижение уровня bcl-2 приводит к увеличению экспрессии генов эффекторных каспаз и реализации апоптоза. Белок p53 запускает транскрипцию одних и ингибирует транскрипцию других генов. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК; при сильном стрессовом сигнале – запуск апоптоза. Недостаток p53 и bax приводит к повышению жизнеспособности клетки, что может формировать устойчивость к большинству вызывающим апоптоз стимулам. Выявленные изменения экспрессии белков-регуляторов апоптоза Bcl-2 и p53, а также молекулы FAS-рецепции могут являться одним из факторов риска развития патологического состояния, так как вызывают дисбаланс про- и антиапоптотических сигналов и могут влиять на уровень выживания иммунокомпетентных клеток в условиях повышенного содержания стабильного стронция в организме.

Заключение

В диапазоне концентраций стронция в воде 7,22 – 8,46 мг/л выявлена достоверная и адекватная зависимость повышения содержания стронция в крови от концентрации стронция в воде, описываемая уравнением вида: $y = 0,04 + 0,012x$ и рядом её характеристик ($R^2 = 0,44$; $F = 310$; $p = 0,00001$). Установлено, что на 1 мкг/л повышения стронция в воде его концентрация в крови возрастает на 0,012 мг/дм³. Представленные результаты позволяют рассматривать повышенное содержание стронция в организме детей в качестве индикаторного показателя хронической водной экспозиции.

Выявлена гетерогенность экспрессии показателей клеточной гибели – белков p53, bcl-2, bax, молекул CD95⁺ и аннексиновой метки. Установлено, что у детей, проживающих в условиях стронциевой геохимической провинции, статистически значимо ($p < 0,05$) снижено количество CD95⁺-лимфоцитов (по относительной и абсолютной величине), экспрессия p53, bax и количество Annexin V-FITC⁺PI⁻ клеток, погибающих по пути апоптоза, а также статистически значимо ($p < 0,05$) повышено содержание Annexin V-FITC⁺PI⁺-клеток, погибающих по пути некроза по сравнению с результатами, выявленными у детей группы контроля. На основе научного анализа, оценки причинно-следственных связей и построения математических моделей выявлена вероятность изменения количества апоптотических и некротических изменённых лимфоцитов (AnnV-FITC⁺PI⁻, Annexin V-FITC⁺PI⁺), а также снижения апоптозассоциированных показателей CD95⁺, p53 достоверно связанных с повышением концентрации стронция в крови ($R^2 = 0,40 - 0,80$; $p < 0,05$).

Полученные результаты доказывают, что длительное избыточное воздействие на детский организм стабильного стронция природного происхождения, поступающего с питьевой водой, приводит к изменениям деятельности иммунной системы, характеризующимся нарушением регуляции клеточной гибели – ингибированию апоптоза и активации некроза. Таким образом, концентрации стронция в воде $7,84 \pm 0,62$ мг/л формируют избыточное его содержание в крови на уровне $0,1 [0,04 - 0,11]$ мг/дм³ и определяют состояние апоптоза на территориях стронциевых геохимических провинций: CD95⁺ – 17,50 [15,48; 22,03], bax – 5,66 [4,67; 7,84], p53 – 0,53 [0,22; 0,98], bcl-2 – 0,24 [0,21; 0,36], AnnexinV-FITC⁺PI⁻клетки – 0,67 [0,56; 0,88], AnnexinV-FITC⁺PI⁺-клетки – 10,58 [9,54; 16,11]. По результатам проведённых исследований реперный уровень для стронция составил по критерию снижения CD95 – 0,06 мг/дм³, по критерию снижения p53 – 0,055 мг/дм³, в качестве лимитирующего по критерию снижения содержания AnnexinV-FITC⁺PI⁻ лимфоцитов – 0,052 мг/дм³. Показатели апоптотической регуляции p53, bcl-2, Annexin V-FITC⁺PI⁻ рекомендуется использовать в качестве индикаторных показателей нарушений иммунного статуса, а также использовать для мониторинга эффективности профилактических мероприятий.

Финансирование: Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература (п.п. 5, 6 см. References)

1. Бережнова Т.А., Денисенко В.И. Техногенное загрязнение окружающей среды как фактор риска развития заболеваний. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011; 18(2): 484-6.
2. Скворцов Л.С., Жмур Н.С. Современное состояние и перспективы улучшения водоснабжения в Российской Федерации. *Вестник РАЕН*. 2010; (3): 635-9.
3. Старкова К.Г., Долгих О.В., Дианова Д.Г., Лебедева Т.М. Иммуномодулирующие эффекты у детей в условиях воздействия стронция при поступлении с питьевой водой. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(1): 63-5.
4. Щеплягина Л.А. Подходы к оценке воздействия на детей промышленного загрязнения окружающей среды. *Медицина труда и промышленная экология*. 1999; (9): 27-30.
7. Долгих О.В., Зайцева Н.В., Кривцов А.В., Старкова К.Г., Дианова Д.Г., Бубнова О.А. и др. Разработка методических подходов к идентификации особенностей генетического полиморфизма и экспрессии генов у детей в условиях воздействия химических средовых факторов на примере стронция. *Анализ риска здоровью*. 2016; (1): 34-41.
8. МР 2.1.10.0062-12. Количественная оценка неканцерогенного риска при воздействии химических веществ на основе построения эволюционных моделей. Методические рекомендации. М.; 2012.
9. Манских В.Н. Пути гибели клетки и их биологическое значение. *Цитология*. 2007; 49(11): 909-15.
10. Рыжов С.В., Новиков В.В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов. *Российский биотерапевтический журнал*. 2002; 1(3): 27-33.
11. Р 2.1.10.1920-04. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.; 2004.

References

1. Berezhnova T.A., Denisenko V.I. Risk assessment for health effects associated with environmental factors. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2011; 18(2): 484-6. (in Russian)
2. Skvortsov L.S., Zhmur N.S. State-of-the-art and perspective view of water-supply improvement in Russian Federation. *Vestnik RAEN*. 2010; (3): 635-9. (in Russian)
3. Starkova K.G., Dolgikh O.V., Dianova D.G., Lebedeva T.M. Immunomodulatory effects in children in conditions of the exposure to strontium due to intake with drinking water. *Gigiena i sanitariya*. 2016; 95(1): 63-5. (in Russian)
4. Shechplyagina L.A. Approaches to the evaluation of environmental pollution effect on children induced by industry. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 1999; (9): 27-30. (in Russian)
5. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at Ig. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1968; 97(21): 77-89.
6. Vanags D.M., Pörn-Ares M.L., Coppola S., Burgess D.H., Orrenius S. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. *Biol. Chem.* 1996; 271(49): 31075-85.

7. Dolgikh O.V., Zaytseva N.V., Krivtsov A.V., Starkova K.G., Dianova D.G., Bubnova O.A., et al. Development of methodical approach to the identification of the features of the genetic polymorphisms and gene expression in children under influence of chemical environmental factors on the example of strontium. *Analiz riska zdorov'yu*. 2016; (1): 34-41. (in Russian)
8. MR 2.1.10.0062-12. The quantitative assessment, based on the construction of evolutionary models, of non-carcinogenic risk associated with exposure to chemicals. Methodical recommendations. Moscow; 2012. (in Russian)
9. Manskikh V.N. Pathways of cell death and their biological importance. *Tsitologiya*. 2007; 49(11): 909-15. (in Russian)
10. Ryzhov S.V., Novikov V.V. Molecular mechanisms of apoptotic process. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 2002; 1(3): 27-33. (in Russian)
11. R 2.1.10.1920-04. Guide to health risk assessment when exposed to chemicals polluting the environment. Moscow; 2004. (in Russian)

Поступила 15.09.17

Принята к печати 25.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 614.72:616.15+616.41]-053.2

Четвёркина К.В., Клейн С.В., Чигвинцев В.М.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ЭКСПОЗИЦИИ ХЛОРОФОРМА В ПЕРМСКОМ КРАЕ И ЕЁ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ У ДЕТЕЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПО КЛАССУ БОЛЕЗНЕЙ КРОВИ, КРОВЕТВОРНОЙ СИСТЕМЫ И ОТДЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ, ВОВЛЕКАЮЩИХ ИММУННЫЙ МЕХАНИЗМ

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь

На основе системного обзора подтверждена актуальность проблемы содержания хлороформа в питьевой воде централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения на территории Пермского края. Представлена сравнительная характеристика со среднероссийскими показателями. Установлена недостаточность объёма информации, содержащей сведения о влиянии хлороформа при пероральном поступлении на систему крови. Представлены результаты исследования содержания хлороформа в пробах воды централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения в городах Пермского края, а также в крови детского населения в возрасте 3–13 лет, проживающих на указанных территориях и потребляющих исследуемую воду в за период с 2011 по 2015 г. Описана многолетняя динамика содержания хлороформа, содержащегося в пробах питьевой воды и в биосредах. Проведено математическое моделирование зависимости содержания хлороформа в крови как маркера экспозиции от концентрации хлороформа в воде. В результате анализа заболеваемости детского населения болезнями системы крови, кроветворных органов и отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм, установлена достоверность различий между территориями Пермского края с поверхностным и подземным водоснабжением. Представлена и описана динамика содержания хлороформа в воде и заболеваемости по классу болезней крови, кроветворных органов и отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм. Установлена ассоциация экспозиции хлороформа при пероральном поступлении с питьевой водой с заболеваемостью по классу болезней системы крови на основе построения математической модели. Представлено заключение о правдивости информации о влиянии хлороформа при пероральном поступлении на систему крови, кроветворных органов и отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм.

Ключевые слова: хлороформ; питьевая вода; Пермский край; детское население.

Для цитирования: Четвёркина К.В., Клейн С.В., Чигвинцев В.М. Гигиеническая оценка динамики экспозиции хлороформа в Пермском крае и её воздействие на формирование у детей заболеваемости по классу болезней крови, кроветворной системы и отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм. *Гигиена и санитария*. 2017; 97(1): 29-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-1-29-34>

Для корреспонденции: Четвёркина Кристина Владимировна, аспирант, специалист по оценке риска лаборатории методов анализа внешнесредовых рисков отдела анализа риска для здоровья, 614045, Пермь. E-mail: romanenko@fcrisk.ru

Chetverkina K.V., Kleyn S.V., Chigvintsev V.M.

HYGENIC ASSESSMENT OF DYNAMICS OF CHLOROFORM EXPOSITION IN PERM REGION AND IT'S IMPACT ON CAUSING DISEASES OF THE BLOOD, BLOOD-FORMING ORGANS AND CERTAIN DISORDERS INVOLVING IMMUNE MECHANISM AMONG CHILDREN

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

On the basis of the system review, the relevance of the problem of the chloroform content in the drinking water of centralized drinking-water supply systems in the Perm Territory is confirmed. The comparative characteristic with the average Russian indices is presented. Insufficient volume of information containing data on the impact of the oral intake of chloroform on the blood system was established. There are presented results of the research content of chloroform in water samples from centralized drinking water supply in the cities of Perm region, as well as in the blood of the child population aged from 3 to 13 years living in these areas and consuming water under investigation in the period from 2011 to 2015. A long-term dynamics of the content of chloroform, contained in samples of drinking water and in bio-environments is described. A mathematical simulation of the dependence of the chloroform content in the blood as an exposure marker on the concentration of chloroform in water was carried out. As a result of the analysis of the prevalence rate of diseases of the blood system, hematopoietic organs and certain disorders involving the immune mechanism in the child population, there was established the relevance of differences between the territories of Permsky Krai with surface and underground water supply. The dynamics of the chloroform content in water and morbidity according to the class of blood diseases, hematopoietic organs and certain disorders involving the immune mechanism is presented and described. The association between the exposure to the oral intake of chloroform with drinking water with a morbidity on the class